

Universidade de Lisboa  
Faculdade de Medicina Dentária



**Resistência de adesão à dentina de um sistema adesivo  
universal no modo *self-etch* com pressão pulpar**

**Filipe Augusto Sardinha Rodrigues**

Dissertação

Mestrado Integrado em Medicina Dentária

2018



Universidade de Lisboa  
Faculdade de Medicina Dentária



**Resistência de adesão à dentina de um sistema adesivo  
universal no modo *self-etch* com pressão pulpar**

**Filipe Augusto Sardinha Rodrigues**

Dissertação Orientada

Pela Prof.<sup>a</sup> Doutora Sofia Arantes e Oliveira

Mestrado Integrado em Medicina Dentária

2018



## Agradecimentos

A forma de nós comunicarmos, sorrirmos, abraçarmos, são maneiras de transmitir-nos força. A força pode ser uma expressão ou simplesmente uma manifestação de sentimentos que nos faz implodir em direção àquilo que sonhamos. Seja força mental, força emocional, força física, força de vontade, a intensidade daquilo que sentimos está dependente das nossas motivações.

É extremamente fascinante a capacidade que o ser humano tem de influenciar o percurso de outrem. A empatia é a meu ver, algo que nos ajuda a querer aprender, querer voltar e querer evoluir. A professora Doutora Sofia Arantes e Oliveira é soberbamente tudo isto. Para além de uma excelente profissional, é um ser humano incrível, pautada pela simpatia, honestidade e uma excelente capacidade de organização. É de quem levo sinceramente, uma vontade enorme de querer aprender, querer evoluir e querer voltar. Sem dúvida uma das melhores docentes desta “casa”. Agradeço todo o empenho, dedicação e partilha de conhecimentos. Foi essencial para a conclusão desta etapa.

Agradeço também a todas as pessoas que de algum modo influenciaram o meu percurso académico, em especial:

À Professora Doutora Filipa Chasqueira pela disponibilidade, simpatia, motivação e ajuda com algumas dúvidas referentes ao laboratório.

À Daniela Abreu por ser amiga, colega, presente, conselheira, um autêntico braço direito durante a minha jornada laboratorial. A tua disponibilidade foi importante para a concretização deste trabalho.

Ao Nuno pela disponibilidade e ajuda durante a introdução ao laboratório.

À Joana por ser uma amiga muito importante, por viver esta e muitas outras aventuras ao longo destes últimos anos comigo, pela motivação, por ser alento, por ser “casa”.

À Catarina, Natielle, Leonor, por fazerem parte da minha vida neste ciclo tão importante. Pela amizade verdadeira.

Aos meus fiéis amigos que estão a meu lado desde o primeiro ano, por cada batalha travada, por cada desafio ultrapassado sempre a pés juntos. Esta conclusão não

seria possível sem a vossa ajuda, sem a vossa amizade. Obrigado Luís Nepomuceno, André Marques, Margarida Martins, Sara Neves, Daniela Lourenço, Mónica Lourenço, Mónica Moreira, Dayana Silva, Maria Santos.

À Anita por ser das amigas mais importantes que construí até agora. Por estar comigo nos momentos mais difíceis, por compreender-me quando eu próprio não consigo, por ser parceira de todas as aventuras. Por ser verdade, sinceridade, por ser família.

À Karina por ser “a dupla”, pela irmandade que formámos, por me aturar todos os dias, por ser amiga, genuína, forte, lutadora, perspicaz. Por aprender tanto contigo nestes últimos anos. Por já ser parte da minha família.

Aos meus tios Roberto, Sónia e Carmén. Ao meu irmão Francisco. Obrigado pelos conselhos, pelo incentivo e apoio que resultou na minha candidatura a esta instituição.

À minha avó Margarida por me ensinar coisas novas a cada dia. Por ser mãe “duas vezes”. Por ser a minha maior fã, por acreditar em mim mesmo quando eu fracasso. Por ser a melhor avó do mundo.

À minha mãe Ana, por ser a pessoa mais corajosa que conheço. Por ser a mulher da minha vida, por ensinar-me a não desistir daquilo que almejamos. Por acreditar que a “ilha” era pouco para mim. Por ser o meu maior orgulho, exemplo. Por me apoiar incondicionalmente.

À minha tia Graça, por fazer parte da minha educação, mesmo não estando cá, pelas memórias de infância pela tua força, vontade de viver e ir mais longe. “Conta a história, que Deus criou o mundo colocando nele todas as espécies de animais e insetos. Viu que tudo era belo, mas faltava um ser que comandasse o mundo e todas as suas espécies. Então pensou, vou criar um ser semelhante a mim. E assim criou o homem!”

## Resumo

**Objetivo:** Determinar se diferentes protocolos de tratamento da dentina antes da aplicação de um sistema adesivo universal (Scotchbond Universal®), no modo *self-etch* (SE) com presença de pressão pulpar, têm influência na morfologia da camada híbrida e na resistência adesiva à microtração ( $\mu$ TBS) às 24h.

**Materiais e métodos:** 40 molares humanos hígidos foram divididos em 4 grupos: Grupo A (GA) – aplicação do adesivo sem tratamento da dentina; Grupo B (GB) – aplicação de 3 camadas do adesivo; Grupo C (GC) – aplicação de acetona a 95% antes da aplicação do adesivo; Grupo D (GD) – aplicação de EDTA a 17% antes da aplicação do adesivo. Em todos os grupos o adesivo foi aplicado no modo SE, com pressão pulpar. Após adesão e restauração com resina composta, os espécimes foram armazenados em água destilada a 37°C - 24h e cortados longitudinalmente. Uma metade foi observada em microscopia eletrônica de varrimento (MEV) e a outra metade foi cortada, para o ensaio de  $\mu$ TBS, em palitos de dentina-resina com área seccional de 1mm<sup>2</sup>. Os valores de  $\mu$ TBS foram comparados com ANOVA de uma dimensão e post-hoc Student Neuman Keuls.

**Resultados:** Nas microfotografias de MEV os espécimes dos GA e GC apresentaram uma camada híbrida mais fina, com prolongamentos de resina escassos. A presença de falhas e irregularidades foi maior nos espécimes de GC. Por outro lado, nos espécimes dos GB e GD a camada híbrida observada foi mais espessa e com prolongamentos de resina acessórios nos espécimes de GD. Os espécimes do GD obtiveram valores de  $\mu$ TBS significativamente mais elevados ( $p<0,05$ ).

**Conclusões:** O condicionamento da dentina com EDTA a 17% previamente à aplicação de um sistema adesivo universal no modo SE, em condições de pressão pulpar positiva, resultou em espécimes com melhor interface adesiva e valores de  $\mu$ TBS mais elevados do que os restantes grupos em estudo.

**Palavras-Chave:** Sistema adesivo universal, *self-etch*, tratamento da dentina, pressão pulpar, microtração, camada híbrida, microscopia eletrônica de varrimento.





## Abstract

**Aims:** To evaluate if different dentine treatment protocols before application of Scotchbond Universal® in self-etch (SE) mode with positive pulp pressure has influence in the adhesive interface and 24h microtensile bond strengths ( $\mu$ TBS).

**Materials and methods:** 40 healthy molars were included in 4 groups: Group A (GA) – adhesive applied without dentine treatment; Group B (GB) – adhesive applied 3 times; Group C (GC) – application of 95% acetone before adhesive application; Group D (GD) – application of 17% EDTA before adhesive application. Adhesive was applied in all groups in SE mode with positive pulpal pressure. After adhesive restauration, the specimens were stored in distilled water at 37°C. After 24h, the specimens were divided into 2 equals parts. One was observed in scanning eletron microscopy (SEM) and the other was processed into dentine-resin sticks with a cross-sectional area of approximately 1mm<sup>2</sup> that were further submitted to  $\mu$ TBS testing. Statistical analysis was performed using ANOVA and post-hoc Student Neuman Keuls.

**Results:** In SEM observation specimens from GA and GC presented a thinner hybrid layer with low resin tags. The presence of flaws and irregularities was greater in the GC specimens. On the other hand, in GB and GD specimens the hybrid layer observed was thicker and with accessory resin tags in GD specimens. Adhesive strength analysis showed a significant increase in mean adhesive strength values when dentin was pre-treated with EDTA ( $p < 0,05$ ).

**Conclusions:** Dentine treatment with 17% EDTA before the application of an universal adhesive system in SE mode resulted in a better adhesive interface and higher  $\mu$ TBS values than the other groups in study.

**Key-words:** Universal adhesive system, self-etch, dentin pre-treatment, pulpal pressure, microtensile bond strength, hybrid layer, scanning electron microscopy.



## Índice

Agradecimentos.....	i
Resumo.....	iii
Abstract .....	v
Lista de figuras .....	ix
Lista de tabelas.....	xi
Abreviaturas .....	xii
Símbolos .....	xii
Unidades .....	xii
1. Introdução .....	1
2. Objetivos .....	6
3. Materiais e métodos .....	7
3.1 Desenho experimental.....	7
3.2 Materiais Utilizados .....	8
3.3 Preparação dos espécimes e protocolo de adesão. ....	9
3.4 Ensaio de resistência adesiva à microtração.....	12
3.4 Caracterização da interface adesiva com microscopia eletrónica de varrimento (MEV)..	13
3.5 Análise estatística.....	14
4. Resultados .....	15
4.1 Caracterização morfológica da interface adesiva em MEV .....	15
4.2 Análise dos valores de microtração.....	17
5. Discussão.....	19
6. Conclusão .....	25
7. Bibliografia .....	26
Apêndice A – Microfotografias da Microscopia eletrónica de Varrimento (MEV).....	I
Apêndice B – Tabelas .....	IV



## Lista de figuras

<b>Figura 1</b> – Esquema representativo do estudo.....	8
<b>Figura 2</b> – Simulação da pressão pulpar. a) Dipositivo de Pressão Pulpar; b) Base do dispositivo (visão superior).....	10
<b>Figura 3</b> – Dispositivo utilizado para a polimerização (fotoativação) dos materiais utilizados no estudo.....	11
<b>Figura 4</b> – Corte dos espécimes. a) Máquina de Corte; b) Disco de corte utilizado seccionar os espécimes; c) Máquina de corte (visão aumentada).....	11
<b>Figura 5</b> – Esquema dos cortes longitudinais. a) Metade utilizada para os ensaios de microtração; b) Metade utilizada para observação em MEV.....	11
<b>Figura 6</b> – Material utilizado para os testes de microtração. a) Cola de Cianocrilato; b) <i>Jig</i> de <i>Geraldelli</i> .....	12
<b>Figura 7</b> – Espécimes submetidos à microtração. a) Palitos de resina-dentina; b) Espécime pronto para ser testado.....	12
<b>Figura 8</b> – Máquina de Teste Universal. a) Espécime por testar; b) Espécime por testar (visão aumentada).....	12
<b>Figura 9</b> – Microscópio ótico (Nikon, Japão).....	13
<b>Figura 10</b> – Microfotografias obtidas através de MEV da interface adesiva após aplicação do sistema adesivo no modo <i>SE</i> segundo o fabricante e com pressão pulpar – Grupo A. Imagem A1 – ampliação 200x. Imagem A2 – ampliação 2000x. A – Camada de Adesivo; C - camada de compósito, D – dentina, H – camada Híbrida, f – falha na resina composta, 1 - prolongamentos de resina, 2 - <i>smear layer</i> , 3 - prolongamento de resina acessório...	15
<b>Figura 11</b> – Microfotografias obtidas através de MEV da interface adesiva após aplicação de Acetona previamente ao sistema adesivo no modo SE e com pressão pulpar – Grupo C. (C). Imagem C1 – ampliação 200x. Imagem C2 – ampliação 2000x. A – Camada de Adesivo; C- camada de compósito, D – dentina, H – camada Híbrida, 1 – falha no compósito, 2 – prolongamento de resina, 3 – falha por baixo da camada híbrida.....	16
<b>Figura 12</b> – Microfotografias obtidas através de MEV da interface adesiva após aplicação de EDTA previamente ao sistema adesivo no modo SE e com pressão pulpar – Grupo D. Imagem D1 – ampliação 200x. Imagem D2 – ampliação 1000x. A – Camada de Adesivo; C- camada de compósito, D – dentina, H – camada Híbrida, 1 – prolongamento de resina, 2 – prolongamento acessório de resina.....	16

- Figura 13** – Microfotografias obtidas através de MEV da interface adesiva após aplicação do sistema adesivo três vezes no modo SE e com pressão pulpar – Grupo B (B). Imagem B1 – ampliação 200x. Imagem B2 – ampliação 1000x. A – Camada de Adesivo; C – camada de compósito, D – dentina, H – camada Híbrida, 1 – prolongamento de resina, 2 – falha por baixo da camada híbrida, 3- *smear layer*.....17
- Figura 14** – Gráfico representativo da percentagem (%) das zonas de falha de cada grupo estudado.....18
- Figura A. 1** – Microfotografias obtidas através de MEV da interface adesiva após aplicação do sistema adesivo no modo SE segundo o fabricante e com pressão pulpar – Grupo A. Imagem A3 – ampliação 1000x. Imagem A4 – ampliação 2000x. A – Camada de Adesivo; C - camada de compósito, D – dentina, H – camada Híbrida, 1 - prolongamentos de resina, 2 - *smear layer*.....I
- Figura A. 2** – Microfotografias obtidas através de MEV da interface adesiva após aplicação de Acetona previamente ao sistema adesivo no modo SE segundo o fabricante e com pressão pulpar – Grupo C. Imagem C3 e C4 – ampliação 2000x. A – Camada de Adesivo; C - camada de compósito, D – dentina, H – camada Híbrida, 1 - prolongamentos de resina, 2 – falha por baixo da camada híbrida.....I
- Figura A. 3** – Microfotografias obtidas através de MEV da interface adesiva após aplicação de EDTA previamente ao sistema adesivo no modo SE e com pressão pulpar – Grupo D. Imagem D3 e D4 – ampliação 2000x. A – Camada de Adesivo; C- camada de compósito, D – dentina, H – camada Híbrida, 1 – prolongamento de resina, 2 – prolongamento acessório de resina.....II
- Figura A. 4** – Microfotografias obtidas através de MEV da interface adesiva após aplicação do sistema adesivo três vezes no modo SE e com pressão pulpar – Grupo B. Imagem B3 – ampliação 1000x. Imagem B4 e B5 – ampliação 2000x A – Camada de Adesivo; C- camada de compósito, D – dentina, H – camada Híbrida, 1 – prolongamento de resina, 2- falha por baixo da camada híbrida, 3- *smear layer*.....III

## Lista de tabelas

<b>Tabela 1</b> – Materiais utilizados, respetiva composição e modo de aplicação.....	9
<b>Tabela 2</b> – Valores de resistência adesiva à microtração: média, desvio padrão, mínimo e máximo (MPa) por grupo experimental.....	17
<b>Tabela B. 1</b> – Testes de Kolmogorov-Smirnov e Shapiro-Wilk para avaliação da normalidade da distribuição de valores.....	IV
<b>Tabela B. 2</b> – Teste de Levene para avaliação da homogeneidade da variância.....	IV
<b>Tabela B. 3</b> – Teste ANOVA de uma dimensão para análise dos valores de microtração entre os grupos experimentais.....	V
<b>Tabela B. 4</b> – Teste Post-hoc Student Neuman Keuls para análise dos valores de microtração entre os grupos experimentais.....	V

## Abreviaturas

$\mu$ TBS – forças de microtração (microtensile bond strength)

Bis-GMA – Bisfenol-A-glicidilmetacrilato (Bisphenol A Glycidyl Methacrylate)

Bis-EMA – Bisfenol A di-glicil metacrilato etoxilado (Ethoxylated bisphenol A glycol dimethacrylate)

UDMA – Uretano dimetacrilato (Urethane Dimethacrylate)

ER – Etch and rinse

SE – Self etch

HEMA - 2-hidroxietil metacrilato

LED - díodo emissor de luz (light-emitting diode)

10-MDP - monómero 10-metacrilóxidecil di-hidrogênio fosfato (10 methacryloyloxydecyl dihydrogen phosphate monomer)

MEV - microscopia eletrônica de varrimento (scanning electron microscopy)

EDTA – Ácido etilenodiamina tetra-acético (Tetra-acetic acid ethylenediamine)

## Símbolos

% - Percentagem

pH – Potencial de hidrogênio

N – Tamanho da população

n – Tamanho da amostra

*p* – Probabilidade de Significância

$\alpha$  – Nível de significância

$\beta$  – Poder da amostra

C – Constante da fórmula de Snedecor e Cochran (Clark, 1991) dependente de  $\alpha$  e  $\beta$

s – Desvio-padrão na fórmula de Snedecor e Cochran (Clark, 1991)

d – Diferença a ser detectada na fórmula de Snedecor e Cochran (Clark, 1991)

## Unidades

rpm – rotação por minuto - unidade de velocidade angular

cmH<sub>2</sub>O – centímetros de água - unidade de pressão

°C – graus Celsius – unidade de temperatura

s – segundo – unidade de tempo

min – minuto – unidade de tempo

h – hora – unidade de tempo

$\mu$ m – micrómetros - unidade de medida



p/v – peso/volume – unidade de densidade

nm – nanómetros – unidade de área

mm – milímetros – unidade de área

mm<sup>2</sup> - milímetros quadrados - unidade de área

MPa – megapascal - unidade de pressão

kV – quilovolts – unidade de tensão elétrica

kN – quilonewton – unidade de força

mW/cm<sup>2</sup> – microwatt por centímetro quadrado – unidade de intensidade de radiação

## 1. Introdução

A Dentisteria restauradora tem evoluído bastante nas últimas décadas, sendo o conceito de adesão o principal motor dessa evolução (Van Meerbeek *et al.*, 2003). Este conceito tem sido estudado desde 1955 (Buonocore, 1955). Com a introdução do condicionamento ácido (ataque ácido ao esmalte com ácido fosfórico a 85%) foi possível desenvolver a técnica de restauração adesiva, mais conservadora e cuja durabilidade está dependente da integridade da interface adesiva criada entre o material restaurador e o substrato dentinário (Buonocore, 1955, Hashimoto *et al.* 2003, Cardoso *et al.*, 2011).

Há vários fatores responsáveis pela qualidade e estabilidade a longo prazo da adesão, entre eles o tipo de tecido dentário, o sistema adesivo utilizado e o protocolo aplicado (Pashley *et al.*, 1995). Relativamente ao substrato, o esmalte e a dentina são os tecidos duros envolvidos no processo restaurador com resinas compostas. Enquanto que a adesão ao esmalte é previsível, a adesão à dentina é bastante complexa, tendo sido esta o principal alvo de investigação e desenvolvimento da técnica adesiva até aos dias de hoje (Perdigão *et al.*, 1996, Van Meerbeek *et al.*, 2003, Van Meerbeek *et al.*, 2011).

O esmalte é composto maioritariamente por cristais de hidroxiapatite 96% (p/v), sendo que 4% (p/v) representam água e matéria orgânica (Park *et al.*, 2008). Comparativamente, a dentina, é composta por menos hidroxiapatite 50% (p/v), e mais colagénio 30% (p/v) e água 20% (p/v). Assim a dentina apresenta uma menor dureza e energia de superfície quando comparada com o esmalte (Pashley, 1996). Além disso, é um substrato que apresenta uma organização tubular desde a junção amelodentinária até à polpa. Quanto mais próximo da polpa maior quantidade de túbulos dentinários por unidade de área, o que contribui para uma maior permeabilidade (Garberoglio & Brannstrom, 1976, Perdigão *et al.*, 2010). A dentina apresenta-se assim como uma superfície húmida devido à sua permeabilidade, uma vez que os canalículos dentinários conduzem o fluído dentinário em direção ao exterior, estimulado pela pressão pulpar positiva, que foi quantificada na literatura em 77cm H<sub>2</sub>O (Brown & Yankowitz, 1964, Ciucchi *et al.*, 1955, Pashley & Carvalho, 1997, Sauro *et al.*, 2007). Assim, o sucesso da adesão à dentina depende da localização anatómica onde se realiza a restauração – quanto maior a permeabilidade, maior a passagem de fluído dentinário em direção à zona da adesão (Pashley, 1996) o que interfere com a técnica adesiva. Por outro lado, estruturas dentinárias diferentes podem ser encontradas como substrato de adesão por se formarem ao longo do desenvolvimento dentário (dentina primária e dentina secundária), assim

como em resposta a fatores externos agressores, como trauma mecânico ou restaurações extensas próximas da polpa (dentina terciária e dentina esclerótica), e ainda como consequência da degradação promovida pela lesão de cárie (dentina afectada). Todas com características morfológicas diferentes aumentam o desafio restaurador (Pashley., 1989, Van Meerbeek *et al.*, 1994, Perdigão *et al.*, 2010,).

Quanto aos sistemas adesivos, hoje em dia são classificados de acordo com o número de passos e a sua interação com o substrato dentário. Existem, portanto, sistemas *etch-and-rinse* (ER) de três ou de dois passos e sistemas *self-etch* (SE) de dois passos ou de um passo. Quando aplicados pelo método ER ou SE, a interação dos sistemas adesivo com os tecidos dentários é diferente, devido à forma como interagem com a *smear layer*. A *smear layer* é formada quando a estrutura dentária é cortada com instrumentos rotativos. Esta é constituída por bactérias, detritos inorgânicos, orgânicos e fluido dentinário, encontrando-se sobre o esmalte e dentina. Na dentina, podemos encontrar *smear layer* também sob a forma de *smear plugs*, quando penetra os túbulos dentinários, diminuindo a permeabilidade dentinária. (Pashley, 1984, Perdigão, 2002, Muñoz *et al.*, 2013). No modo ER, o sistema adesivo promove a remoção da *smear layer*. No modo SE, a *smear layer* é modificada e incluída no processo de adesão. (Van Meerbeek 2003, Perdigão, 2007, Van Meerbeek *et al.*, 2011).

Relativamente aos sistemas adesivos ER, numa primeira fase é aplicado ácido ortofosfórico (pH entre 0,1 a 0,4) em concentrações entre 30% a 40% durante 15 s, para remover a *smear layer* e desmineralizar parcialmente a superfície do esmalte e da dentina (Perdigão, 2002, Pashley *et al.*, 2011). De seguida, é feita a lavagem e secagem de forma a garantir um substrato adequado para se proceder à adesão. Na dentina, a secagem corresponde ao passo mais crítico desta técnica uma vez que com a exposição das fibras de colagénio, não se pode secar em excesso sob pena de colapso da estrutura e impermeabilização, o que impede uma boa impregnação do sistema adesivo. (Van Meerbeek *et al.*, 2003, Perdigão *et al.*, 2013, Chen *et al.*, 2015).

Por outro lado, também não pode haver excesso de água, uma vez que poderá levar à diluição dos monómeros responsáveis pela infiltração do adesivo (Tay & Pashley, 2003, Hashimoto *et al.*, 2006, Hashimoto *et al.*, 2009). No esmalte não temos esta questão, uma vez que sendo um tecido maioritariamente inorgânico, o condicionamento ácido leva a um aumento da área de adesão e consequentemente da energia de superfície (Van Meerbeek *et al.*, 2003).

Nos sistemas adesivos ER de três passos, o segundo passo corresponde a aplicação do *primer* que contém monómeros hidrofílicos misturados com um solvente (podendo ser água, álcool ou acetona), o que permite estabilizar as fibras de colagénio (Van Landuyt *et al.*, 2007). No terceiro passo é aplicada uma resina fluída. Nos sistemas adesivos ER de dois passos, no segundo passo é aplicado de uma só vez e em conjunto o *primer* e a resina fluída (Van Meerbeek *et al.*, 2003).

Nos sistemas adesivos SE, não é necessário um condicionamento ácido inicial, visto que estes contêm monómeros acídicos na sua constituição, promovendo uma desmineralização do tecido dentário e impregnação da resina em simultâneo. Desta forma, diminuem o tempo de aplicação e sensibilidade da técnica por apresentarem menos passos (Van Meerbeek *et al.*, 2003, Van Landuyt *et al.*, 2005, Perdigão *et al.*, 2010).

Nos sistemas SE de dois passos é aplicado primeiramente um *primer* de monómeros acídicos e depois a resina fluída constituída por monómeros hidrofóbicos. Nos sistemas de um passo, o *primer* e a resina hidrofóbica do adesivo estão presentes numa única solução, sendo aplicado tudo de uma só vez. Estes últimos também são conhecidos como “all-in-one” (Perdigão, 2007, Sezinando, 2014). Van Meerbeek *et al.*, em 2003 classificou os sistemas adesivos SE consoante o seu pH em: ultra suaves (pH > 2,5), suaves (pH = 2), moderados ( $1 < \text{pH} < 2$ ) ou fortes pH ( $\leq 1$ ) (Van Meerbeek *et al.*, 2003).

Por possuírem um pH superior ao do ácido fosfórico, os adesivos SE não promovem um padrão de desmineralização tão retentivo no esmalte como os adesivos ER (Hosaka *et al.*, 2007, Taschner *et al.*, 2010). Por outro lado, na dentina, os sistemas adesivos SE suaves parecem promover uma melhor adesão (Van Meerbeek *et al.*, 2011). Apesar dos sistemas SE fortes apresentarem uma desmineralização mais profunda e um mecanismo de adesão mais parecido com os sistemas ER, não são capazes de remover o precipitado de fosfato de cálcio que é removido pela lavagem no sistema ER. O fosfato de cálcio que não se une à rede de colagénio prejudica a integridade da interface adesiva (Perdigão 2010, Van Meerbeek *et al.*, 2011).

Cada vez mais, os fabricantes continuam a simplificar os sistemas adesivos para satisfazer a demanda dos clínicos em obter procedimentos adesivos mais simples, menos sensíveis à técnica e mais rápidos de aplicar (Hashimoto *et al.*, 2009, Van Meerbek *et al.*, 2011). Estes sistemas têm como base na sua constituição monómeros funcionais fosfatados como o 10 – metacriloidecilo dihidrogeno fosfato (10-MDP), responsáveis por estabelecer ionicamente uma ligação química ao cálcio da hidroxiapatite, sendo esta

reação química importante para a formação de uma interface adesiva mais estável (Van Landuyt *et al.*, 2007). Além disto, os fabricantes defendem que é possível, com estes sistemas, aderir a outros substratos como metais e cerâmicas (Chen *et al.*, 2015). Estes sistemas são também designados de multi-mode, por permitirem a sua aplicação segundo a estratégia adesiva mais conveniente para o clínico – técnica ER, SE ou ainda condicionamento seletivo do esmalte (ácido ortofosfórico entre 30 a 40 %) (Perdigão, 2002, Hanabusa *et al.* 2012, Sezinando, 2014). Apesar da grande pressão comercial à volta dos sistemas adesivos universais, foi provado que estes apresentam um padrão de degradação da camada híbrida parecida com a dos sistemas adesivos simplificados (Tay & Pashley, 2003, Chen *et al.*, 2015).

A movimentação das moléculas de água através da camada de adesivo polimerizada sobre o substrato dentinário tem sido alvo de estudo (Chersoni *et al.*, 2004, Sezinando, 2014). Com a aplicação de uma solução de nitrato de prata, é possível identificar, em microscopia eletrónica de transmissão, “bolhas de água” e/ou “árvores de água” dentro da interface adesiva. Este padrão ocorre devido à retenção de água que potencia a degradação da resina e da interface adesiva ao longo do tempo (Tay & Pashley, 2003, Tay *et al.*, 2004a, 2004b). Segundo alguns autores, a origem da água pode ser o próprio sistema adesivo quando não é suficientemente seco durante a aplicação, mas também pode provir do fluído dentinário devido à pressão pulpar (Pashley & Carvalho, 1997, Sauro *et al.*, 2007).

Relativamente ao sistema adesivo, sabe-se que a água como solvente melhora a dissolução e difusão dos monómeros presentes nos adesivos e é indispensável quando se trata de adesão à dentina. Contudo, se em excesso, devido à insuficiente remoção, a sua presença influencia a qualidade e integridade da camada híbrida, assim como as forças de resistência adesiva (Pashley *et al.*, 1998, Van Landuyt *et al.*, 2007). Deste modo, a presença contínua de água por osmose através dos canalículos dentinários e também através da *smear layer* são fatores importantes a ter em conta na formação de “bolhas de água” (Hashimoto *et al.*, 2009).

É importante procurar melhorar o desempenho dos sistemas adesivos simplificados, através da modificação dos protocolos de aplicação, com o objetivo de diminuir a degradação a curto e longo prazo, para além de aumentar a penetração dos monómeros do adesivo permitindo aumentar a durabilidade da interface adesiva, aumentando também os valores de resistência adesiva (Pashley *et al.*, 2002, Hashimoto *et al.*, 2004). Têm sido descritas inúmeras alterações, como o aumento o tempo de

polimerização (Cadenaro *et al.*, 2005), do tempo de secagem (Hashimoto *et al.*, 2009), aplicação de várias camadas de adesivo (Pashley *et al.*, 2002, Taschner *et al.*, 2014), o tratamento da superfície dentária com solventes orgânicos (Imbery *et al.*, 2012, Cui *et al.*, 2015, Besinis *et al.*, 2015).

A aplicação de várias camadas de adesivo permite aumentar a concentração de monómeros funcionais disponíveis para impregnação na dentina (Pushpa e Suresh 2010, Taschner *et al.*, 2014). No caso da estratégia SE pode ser um protocolo importante para se conseguir ultrapassar a *smear layer* atingindo a superfície de dentina (Ito *et al.*, 2005, Belli *et al.*, 2011).

A aplicação de agentes voláteis, como o etanol e acetona, são também procedimentos que visam melhorar o desempenho dos sistemas simplificados, por ajudarem na evaporação da água remanescente presente na dentina (Hashimoto *et al.*, 2011, Elkassas *et al.*, 2012, Cui *et al.*, 2015, Besinis *et al.*, 2015). Além disto, alguns autores defendem a aplicação de uma solução de ácido etilenodiamina tetra-acético (EDTA) a 17% (Farina *et al.*, 2011, Martini *et al.*, 2017).

O EDTA é um agente insolúvel, inodoro, de fórmula química  $C_{10}H_{16}N_2O_8$ . É um agente quelante e por dissolução seletiva remove a porção mineral da dentina. Também se liga ao  $Ca^{2+}$  presente na *smear layer*. (Seidberg & Schilder 1974, Farina *et al.*, 2011, Singh *et al.*, 2015, Martini *et al.*, 2017). Também está descrito que o EDTA inibe a ação das metaloproteinases da matriz, podendo diminuir a degradação da interface adesiva a longo prazo (Singh *et al.*, 2015, Martini *et al.*, 2017).

Estudos de investigação mais recentes e com a mesma metodologia relacionam a presença ou ausência da pressão pulpar com o modo de aplicação de um adesivo universal (SE e ER). Mostram-nos que existem diferenças significativas quer nos valores de resistência adesiva quer na morfologia da interface adesiva (Ramos, 2016, Rodrigues, 2016, Abreu, 2017). Quando aplicado um sistema adesivo universal no modo SE na presença de pressão pulpar os valores de resistência adesiva apresentam-se diminuídos. Acredita-se ser devido à incapacidade do adesivo em atravessar uma *smear layer* repleta de água (Ramos 2016, Rodrigues 2016).

Tendo em conta o mencionado, torna-se relevante estudar melhor o comportamento de um sistema adesivo universal segundo a estratégia SE na presença de pressão pulpar, introduzindo protocolos de adesão que permitam diminuir a presença de água na *smear layer*.

## 2. Objetivos

Este estudo *in vitro* tem como objetivo perceber a influência do protocolo de tratamento da dentina antes da aplicação de um sistema adesivo universal no modo SE e com presença de pressão pulpar na morfologia da camada híbrida, assim como nas forças de resistência adesiva obtidas às 24h.

O objetivo geral foi conseguido através dos seguintes objetivos específicos:

1. Analisar a influência do protocolo de tratamento da dentina antes da aplicação do sistema adesivo no modo SE, com pressão pulpar nos valores de resistência adesiva.

H0: Não se verificam diferenças significativas nos valores de resistência adesiva obtidos de acordo com o protocolo de tratamento da dentina antes da aplicação do sistema adesivo no modo SE com pressão pulpar.

H1: Verificam-se diferenças significativas nos valores de resistência adesiva obtidos de acordo com protocolo de tratamento da dentina antes da aplicação do sistema adesivo no modo SE com pressão pulpar.

2. Comparar a morfologia da interface adesiva entre uma resina composta e a dentina criada pelo sistema adesivo no modo SE, com pressão pulpar de acordo com o protocolo de tratamento da dentina.

3. Avaliar a influência do protocolo de tratamento da dentina antes da aplicação do sistema adesivo no modo SE, com pressão pulpar no tipo de falha de união.

### 3. Materiais e métodos

#### 3.1 Desenho experimental

Para a realização deste trabalho de investigação foi necessário a recolha de dentes humanos, sendo a mesma realizada sem identificação dos dadores e aprovada pela comissão de ética da Faculdade de Medicina Dentária da Universidade de Lisboa.

Foi utilizada a fórmula de Snedecor & Cochran para a determinação da dimensão da amostra ( $n$ ):  $n = 1 + 2C(s/d)^2$ , sendo que  $s$  representa o desvio padrão,  $d$  a diferença a ser detetada e  $C$  (7,85) uma constante dependente dos valores de  $\alpha$  (5%) e  $\beta$  (80%) (Clark, 1991). À semelhança dos estudos efetuados dentro da mesma linha de investigação no BIOMAT da Faculdade de Medicina Dentária da Universidade de Lisboa (Abreu, 2017; Ramos, 2016; Rodrigues, 2016) foi definido um desvio padrão ( $s$ ) de 6MPa, e uma diferença ( $d$ ) de 6MPa para uma amostra ( $n$ ) de 10.

Foram usados 40 molares humanos, não restaurados, não cariados e após imersão numa solução aquosa de cloramina a 0.5% durante um máximo de 2 meses, após o qual os dentes foram armazenados em água destilada, a cerca de 4°C, não excedendo o período máximo de 6 meses. Os dentes foram então distribuídos aleatoriamente por quatro grupos ( $n=10$ ) de acordo com o protocolo de tratamento da dentina antes da aplicação do sistema adesivo. Em todos os grupos experimentais a adesão foi realizada na presença de pressão pulpar (Fig. 1):

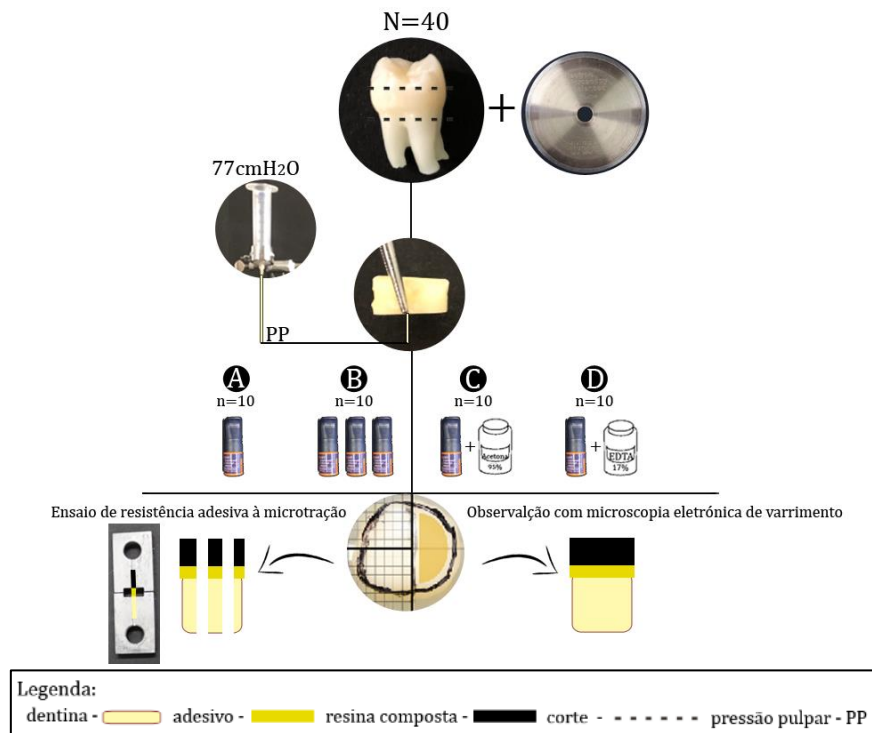
**Grupo A (GA)** – Aplicação do sistema adesivo na estratégia SE sem tratamento da superfície de dentina;

**Grupo B (GB)** – Aplicação de 3 camadas do sistema adesivo na estratégia SE;

**Grupo C (GC)** – Aplicação de acetona a 95% antes da aplicação do sistema adesivo na estratégia SE;

**Grupo D (GD)** – Aplicação de EDTA a 17% em solução antes da aplicação do sistema adesivo na estratégia SE.









**Figura 1** – Esquema representativo do estudo.

### 3.2 Materiais Utilizados

Os materiais utilizados encontram-se descritos na Tabela 1.

Material	Modo de Aplicação	Composição
<b>Scotchbond Universal®</b> 3M, Neuss, Alemanha. Lote: 3184625 Data de validade: 06/2019 	<i>Self-etch</i> <b>1-</b> Aplicar o adesivo ativamente durante 20s; secar com ar durante 5s confirmando-se visualmente que a superfície estava brilhante, mas sem existir movimento do adesivo; <b>2-</b> Fotopolimerizar o adesivo 10s.	Monómeros metacriloidecilo fosfato (10-MDP), 2-hidrocietilmetacrilato, HEMA, copolímero Vitrebond™ (copolímero de ácido acrílico e ácido itacônico), partículas de carga, etanol, água, iniciadores à base de canfroquinona, silano, ácido propenoico, compostos metilados produtos de reação com 1, 10-decanediol e óxido fosfórico (P2O5), (dimetilamino) metacrilato, dimetilaminobenzoato, metil etil cetona pH (a 20°C) = 2,7
<b>Tetric EvoCeram® Bulk Fill</b> Ivoclar Vivadent, Liechtenstein Lote: W14060 Data de validade: 04/03/2021 	<b>1-</b> Após aplicação do sistema adesivo, colocar uma camada de 2mm sobre o preparo. <b>2-</b> Fotopolimerizar 20s (mínimo 500mW/cm2)	Bis-GMA, UDMA, Bis-EMA (17-18% do peso), vidro de bário, trifluoreto de itérbio, óxidos mistos (79-81% do peso), catalisadores, estabilizadores e pigmentos. Tamanho das partículas: 40-3000nm (tamanho médio: 550nm)

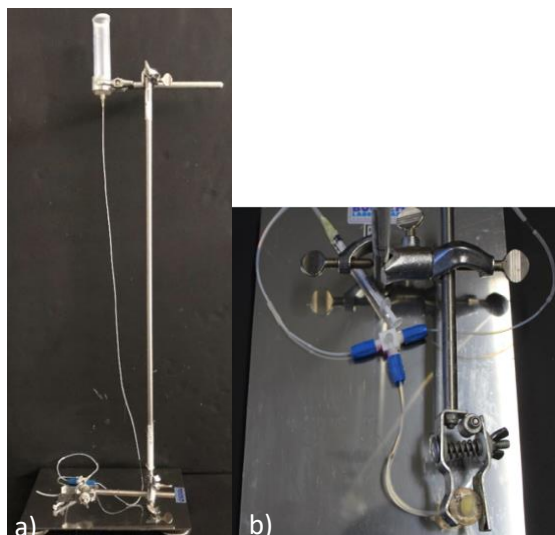
<p><b>Acetona</b> Tintinhas, Lisboa, Portugal</p> 	<p><b>1-</b> Aplicar o solvente ativamente, com recurso a um (microbrush/pincel) sobre toda a superfície dentinária durante 20s <b>2-</b> Secar com ar durante 10s.</p>	<p>Acetona a 95%, 5% de água.</p>
<p><b>EDTA</b> (ácido etilenodiamina tetra-acético)</p> 	<p><b>1-</b> Aplicar a solução aquosa ativamente, com recurso a um (microbrush/pincel) sobre toda a superfície dentinária durante 30s <b>2-</b> Lavar com água destilada e secar com ar durante 10s, sem desidratar.</p>	<p>Ácido etilenodiamina tetra-acético a 17% (solução aquosa)</p>

**Tabela 1**– Materiais utilizados, respetiva composição e modo de aplicação.

### 3.3 Preparação dos espécimes e protocolo de adesão.

Os dentes foram seccionados transversalmente, para remoção das raízes e do terço oclusal, numa máquina de corte Isomet 1000 Precision Saw (Buehler, Lake Bluff, IL, EUA), com um disco de corte impregnado de diamante (Lapcraft, OH, EUA; 4" x .012" x 1/2"), sob refrigeração e com velocidade de 400 rpm. Obtiveram-se discos de dentina com cerca de 2 mm desde o corno pulpar até a superfície de dentina. Após a remoção da polpa, foi feito polimento da superfície oclusal com lixa de grão 600 (Buehler, Lake Bluff, EUA). A *smear layer* foi criada na superfície dentinária, recorrendo à lixa de grão 400 (Buehler, Lake Bluff, IL, EUA) durante 2 min, sob refrigeração com água.

Para simular a pressão pulpar durante a aplicação do sistema adesivo, foi utilizado um dispositivo (Fig. 2) que foi elaborado com base no concebido por Sauro *et al.* (Sauro *et al.*, 2007). Todos os espécimes foram submetidos a esta pressão durante 10 min, com o objetivo de toda a câmara pulpar e túbulos dentinários serem preenchidos com água destilada. Os procedimentos de adesão foram efetuados de acordo com o protocolo do grupo experimental respetivo e com os espécimes ligados ao dispositivo de pressão pulpar.



**Figura 2** – Simulação da pressão pulpar. a) Dipositivo de Pressão Pulpar; b) Base do dispositivo (visão superior).

No GA, o adesivo (Scotchbond Universal, 3M, Neuss, Alemanha) foi aplicado sobre a superfície dentinária, de acordo com a sua estratégia *self-etch*, seguindo as instruções do fabricante (Tab. 1).

No GB, foram aplicadas 3 camadas de adesivo sobre a superfície dentinária, de acordo com a sua estratégia *self-etch*, aplicando jato de ar suave, durante 5 s, sobre cada camada de adesivo.

No GC, foi aplicada acetona a 95%, durante 20 s, sobre toda a superfície dentinária com auxílio de um microbrush, seguido de secagem com jato de ar suave durante 10 s, previamente à aplicação do adesivo. O sistema adesivo foi aplicado como descrito para o grupo A.

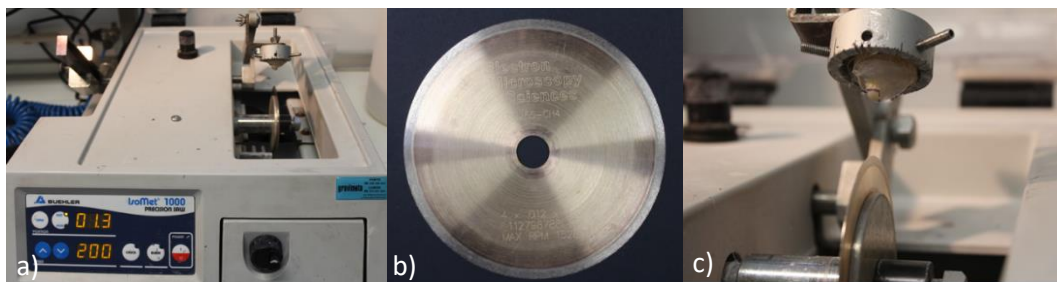
No GD, foi aplicado EDTA a 17% (solução aquosa), durante 30 s, sobre toda a superfície dentinária com auxílio de um microbrush, seguido da lavagem com água e secagem durante 10 s sem desidratar a superfície do disco de dentina. O sistema adesivo foi, de seguida, aplicado da mesma forma que no grupo A.

Todos os espécimes foram restaurados com três incrementos de 2 mm de resina composta nanohíbrida (Tetric EvoCeram® Bulk Fill, Ivoclar Vivadent, Liechtenstein), sendo que os primeiros dois incrementos foram fotopolimerizados durante 20 s e o terceiro durante 40 s. A fotopolimerização dos materiais foi realizada através de um dispositivo emissor de luz de elevada intensidade – LED (Bluephase 20i, série nº 506160 – Ivoclar Vivadent, Schaan, Liechtensein), com uma intensidade calibrada de 12000 mW/cm (Fig. 3).



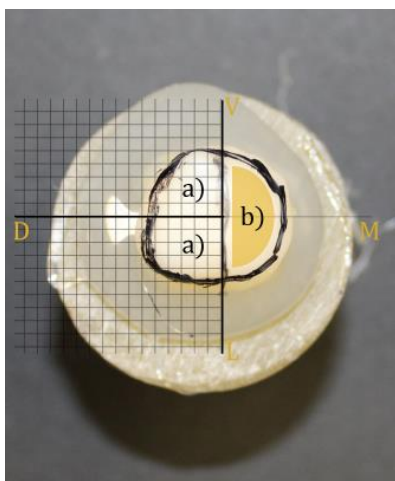
**Figura 3** – Dispositivo utilizado para a polimerização (fotoativação) dos materiais utilizados no estudo.

Os espécimes dos quatro grupos experimentais foram conservados em água destilada, na estufa a 37°C, durante 24h, período após o qual foram seccionados longitudinalmente em duas metades utilizando-se um disco de corte impregnado de diamante (Lapcraft, OH, EUA; 4” x .012” x ½”) a 200 rpm numa máquina de corte Isomet 1000 Precision Saw (nº série 666-IPS-03518; Buehler, Lake Bluff, IL, EUA), com refrigeração (Fig 4.).



**Figura 4** – Corte dos espécimes. a) Máquina de Corte; b) Disco de corte utilizado seccionar os espécimes; c) Máquina de corte (visão aumentada).

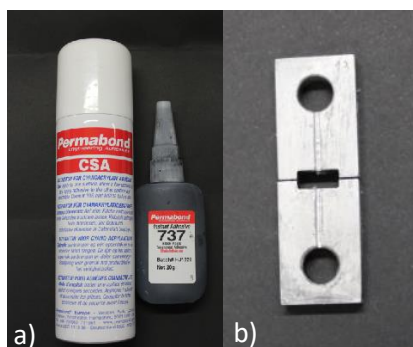
Com o objetivo de se obter palitos de resina-dentina com uma área seccional de cerca de 1 mm<sup>2</sup> para a realização dos testes de microtração ( $\mu$ TBS), uma das metades foi cortada nos sentidos vestibulo-lingual e mesio-distal. A outra metade foi preparada para observação da interface adesiva em MEV (Fig. 5).



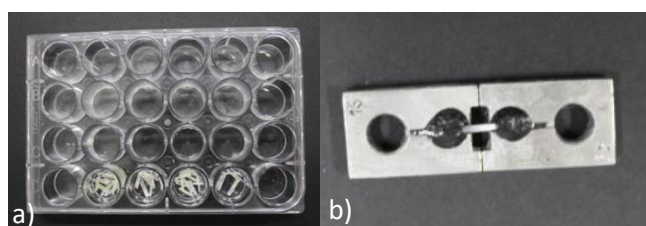
**Figura 5** – Esquema dos cortes longitudinais. a) Metade utilizada para os ensaios de microtração; b) Metade utilizada para observação em MEV.

### 3.4 Ensaio de resistência adesiva à microtração

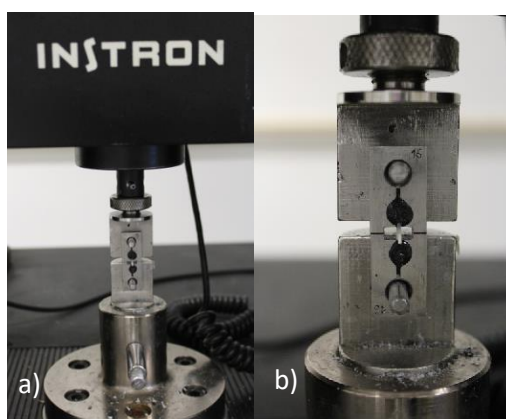
Cada palito obtido foi colado individualmente num jig de Geraldelli de aço inoxidável, com cola de cianoacrilato (Permabond® 737 black magic toughened adhesive, Permabond, UK), e submetido a uma força de tração numa máquina de Teste Universal (Instron 4500, Grove City, PA, EUA), com uma célula de carga de 1 kN, a uma velocidade de 1 mm/min, até ocorrer fratura (Fig. 6, 7 e 8).



**Figura 6** – Material utilizado para os testes de microtração. a) Cola de Cianocrilato; b) Jig de Geraldelli.



**Figura 7** – Espécimes submetidos à microtração. a) Palitos de resina-dentina; b) Espécime pronto para ser testado.



**Figura 8** – Máquina de Teste Universal. a) Espécime por testar; b) Espécime por testar (visão aumentada).

O valor de  $\mu$ TBS foi obtido pelo programa Series IX (Series IX, Automated materials test system, versão 8.34.00, nº série 21744H, Instron Corporation, Grove City, PA, EUA), através da relação entre a carga no momento da fratura e a área de palito aderido, expresso em MPa. A célula de carga de 1 kN foi testada a uma velocidade

padronizada de 1mm/min. A análise da falha ocorrida ao nível da interface adesiva foi realizada recorrendo ao microscópio ótico (Nikon, Japão) com uma ampliação de 10x (Fig. 9). A falha de união foi classificada como: Adesiva (A) – na interface adesiva; Coesiva de compósito (CC) – na resina composta; Coesiva de dentina (CD) – na dentina; Mista (M) – na resina composta e na dentina.



**Figura 9** – Microscópio ótico (Nikon, Japão)

### ***3.4 Caracterização da interface adesiva com microscopia eletrônica de varrimento (MEV)***

Para caracterização da interface adesiva prosseguiu-se com a preparação dos espécimes para ser visualizados em MEV de acordo com protocolo desenvolvido por Oliveira em 2004 (Oliveira, 2004). Primeiramente foi feita a fixação com glutaraldeído 2,5% durante 24 h, a 4 °C. De seguida, procedeu-se à lavagem, com uma solução tampão de cacodilato de sódio 0,1 M, com três imersões de 20 min cada. A superfície da interface adesiva, a ser observada, foi polida com lixas de carbetto de silício (Ref. 30-5218; Buehler, Lake Bluff, IL, EUA – Struers, Copenhaga, Dinamarca) de abrasividade decrescente: grão 120, 400, 500, 1000, 2500, durante 30 s cada e sob refrigeração.

Seguidamente, os espécimes foram polidos com pastas de diamante (Meta Di® Monocrystalline Diamond Suspension, Buehler, Lake Bluff, EUA) de granulometria 6 µm, 3 µm e 1 µm, durante 60 s cada, aplicadas em panos de feltro para polimento (Whitefelt; Ref.162002; Buehler, Lake Bluff, IL, EUA). Entre cada lixa abrasiva, os espécimes foram imersos em água destilada, num banho ultrassónico (Branson®Sonic Bath, modelo M2800-E, número de série BHS021631000B, Branson Ultrasonic Corporation, Danbury, EUA), durante 1 min com o objetivo de remover restos de pasta de polimento e *smear-layer* remanescente.

Para revelação da camada híbrida, os espécimes foram desmineralizados por imersão em ácido hidroclorídrico 0,1 M, durante 90 s e de seguida, mergulhados em hipoclorito de sódio a 10% durante 60 s, para promover a desproteinização.



Após cada imersão os espécimes foram lavados com água destilada durante 30 s. Por fim, foram colocados num banho de ultrassons com água destilada durante 60 s. Seguiu-se a desidratação dos espécimes através de concentrações crescentes de etanol: 25% - 20 min, 50% - 20 min, 75% - 20 min, 96% - 30 min e 100% - 60 min, terminando com submersão em hexametildisilazano (HMDS, Ref.: 440191-1L; Sigma Aldrich, Missouri, EUA) - 10 min e deixados secar sobre um papel de filtro, à temperatura ambiente, durante a noite.

Os espécimes foram colados em discos de alumínio com fita de carbono de dupla face (NEM TAPE, Nisshin Em.Co, Ltd., Japão) com a superfície da interface adesiva voltada para cima. Foram cobertos com partículas de Au-Pd, numa metalizadora com atmosfera de árgon (JEOL Fine Coat Ion Sputter JFC-1100E, n° série SM333132-670, Tóquio, Japão).

Foram realizadas as observações num microscópio eletrónico de varrimento (Hitachi S-450, n.º série 5333884, Tóquio, Japão) com eletrões secundários, a 20 kV, sendo captadas microfotografias da interface adesiva com ampliações 2000X em todos os espécimes. Nos espécimes que apresentavam uma interface muito heterogénea foram feitas microfotografias com ampliações diferentes. As imagens foram obtidas com o software Esprit 1.8.2.2167 (Bruker, MA, EUA).

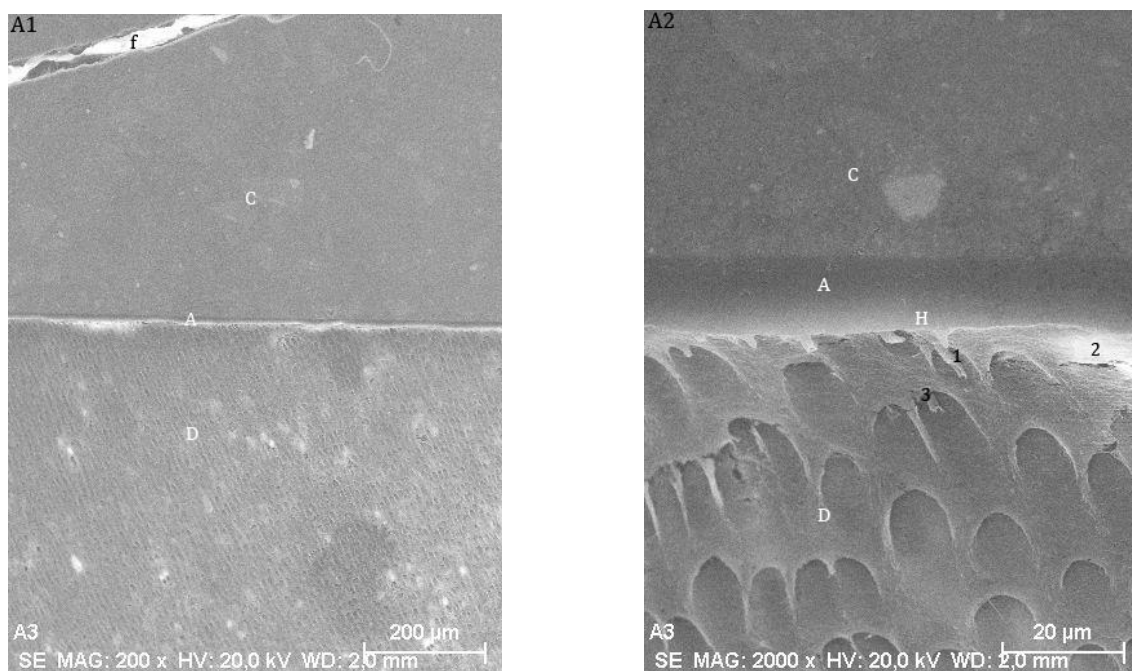
### **3.5 *Análise estatística***

A análise estatística dos valores do ensaio de resistência adesiva à microtração foi realizada com recurso ao programa SPSS (Statistic Package for Social Sciences; IBM SPSS statistics, versão 24.0). Foi calculada a média dos valores de microtração e o desvio-padrão para cada grupo. Para avaliar a normalidade da distribuição e homogeneidade das variâncias utilizaram-se os testes Shapiro-Wilk e o de Levene, respetivamente. Tendo os valores deste estudo uma distribuição normal e uma variância homogénea, foi usado o teste ANOVA de uma dimensão com um Post-hoc Student Neuman Keuls para comparações múltiplas entre os grupos experimentais.

## 4. Resultados

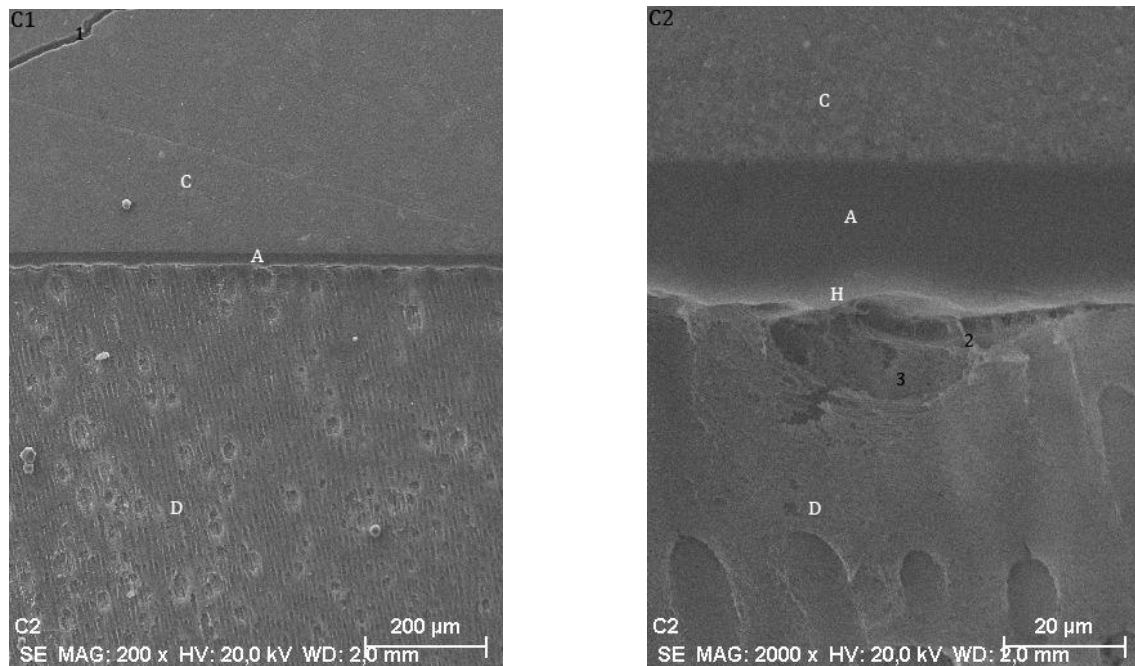
### 4.1 Caracterização morfológica da interface adesiva em MEV

Nos espécimes em que o sistema adesivo foi aplicado segundo o fabricante (GA) (Fig. 13) e nos espécimes em que foi aplicada acetona previamente a aplicação do sistema adesivo (GC) (Fig. 14) verifica-se que tanto a camada híbrida como os prolongamentos de resina são praticamente inexistentes, sendo estes curtos e sem prolongamentos de resina acessórios. Para além disso é possível identificar algumas porosidades. De salientar que o GC é o grupo com menos prolongamentos de resina e com uma camada híbrida mais irregular. Os espécimes dos grupos em que foi aplicado EDTA previamente à aplicação do sistema adesivo (GD) (Fig. 15) e em que o sistema adesivo foi aplicado três vezes (GB) (Fig. 16), apresentam uma camada híbrida mais espessa comparativamente aos GA e GC. Nos espécimes do GD, são visíveis múltiplos prolongamentos de resina dentro dos túbulos dentinários. Nos espécimes do GB observam-se menos prolongamentos de resina quando comparados com os espécimes do GD. As restantes imagens de MEV encontram-se no ANEXO A.

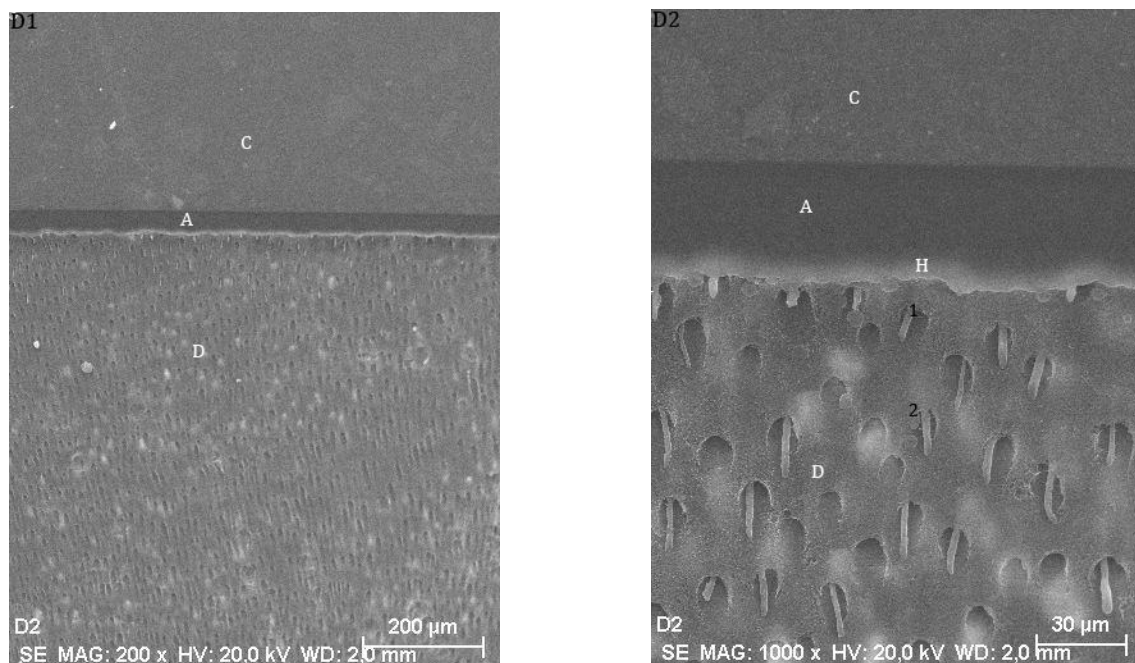


**Figura 10** – Microfotografias obtidas através de MEV da interface adesiva após aplicação do sistema adesivo no modo SE segundo o fabricante e com pressão pulpar – Grupo A. Imagem A1 – ampliação 200x. Imagem A2 – ampliação 2000x. A – Camada de Adesivo; C - camada de compósito, D – dentina, H – camada Híbrida, f – falha na resina composta, 1 - prolongamentos de resina, 2 - *smear layer*, 3 - prolongamento de resina acessório.

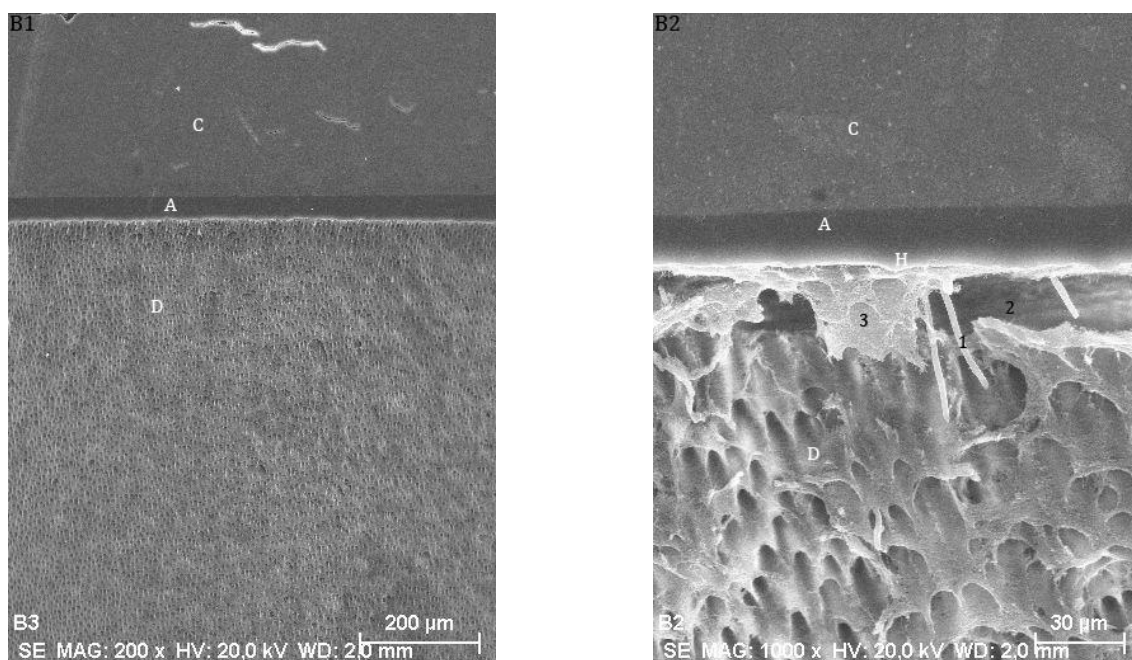




**Figura 11** – Microfotografias obtidas através de MEV da interface adesiva após aplicação de Acetona previamente ao sistema adesivo no modo *SE* e com pressão pulpar – Grupo C. (C). Imagem C1 – ampliação 200x. Imagem C2 – ampliação 2000x. A – Camada de Adesivo; C- camada de compósito, D – dentina, H – camada Híbrida, 1 – falha no compósito, 2 – prolongamento de resina, 3 – falha por baixo da camada híbrida.



**Figura 12** – Microfotografias obtidas através de MEV da interface adesiva após aplicação de EDTA previamente ao sistema adesivo no modo *SE* e com pressão pulpar – Grupo D. Imagem D1 – ampliação 200x. Imagem D2 – ampliação 1000x. A – Camada de Adesivo; C- camada de compósito, D – dentina, H – camada Híbrida, 1 – prolongamento de resina, 2 – prolongamento acessório de resina.



**Figura 13** – Microfotografias obtidas através de MEV da interface adesiva após aplicação do sistema adesivo três vezes no modo SE e com pressão pulpar – Grupo B. Imagem B1 – ampliação 200x. Imagem B2 – ampliação 1000x. A – Camada de Adesivo; C- camada de compósito, D – dentina, H – camada Híbrida, 1 – prolongamento de resina, 2- falha por baixo da camada híbrida, 3- *smear layer*

#### 4.2 Análise dos valores de microtração

Foram obtidos um total 370 palitos de dentina-resina que foram submetidos ao ensaio de resistência adesiva à microtração, em média 9,25 palitos por dente. Foram testados 80 palitos no GA, 96 palitos no GB, 90 palitos no GC e 104 palitos no GD.

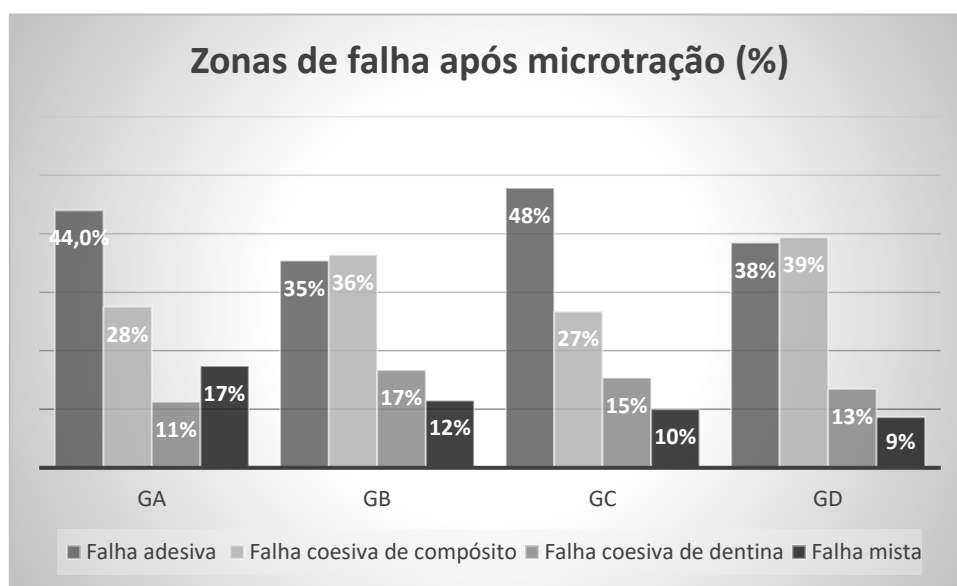
Os valores de microtração (Tab. 2) foram comparados com o teste ANOVA de uma dimensão e um Post-hoc Student Neuman Keuls visto que se mantiveram os pressupostos de normalidade e homogeneidade (tabelas de análise estatística encontram-se no Anexo B).

Grupos Experimentais	Valores de resistência adesiva à microtração			
	Média	Desvio-padrão	Mínimo	Máximo
GA – Scotchbond Universal	54,6	19,1	28,2	78,2
GB – Scotchbond Universal 3 vezes	83,0	38,6	29,9	172,0
GC – Scotchbond Universal e acetona	56,7	13,1	34,2	73,1
GD – Scotchbond Universal e EDTA	100,1	30,6	64,2	161,8

**Tabela 2** – Valores de resistência adesiva à microtração: média, desvio padrão, mínimo e máximo (MPa) por grupo experimental.

Não se verificaram diferenças estatisticamente significativas entre os grupos em que o adesivo foi aplicado de acordo com as indicações do fabricante (GA), o grupo em que a acetona foi aplicada antes do adesivo (GC) e o grupo em que o adesivo foi aplicado três vezes (GB) ( $p=0,063$ ). Os espécimes do grupo em que foi utilizado EDTA (GD) promoveram forças de resistência adesiva significativamente mais elevadas do que os espécimes dos grupos em que o adesivo foi aplicado de acordo com as indicações do fabricante (GA) e os do grupo em que a acetona foi aplicada antes do adesivo (GC), ( $p<0,05$ ). Não se verificaram diferenças estatisticamente significativas entre os grupos em que foi utilizado EDTA (GD) e o grupo em que a acetona foi aplicada antes do adesivo (GB) ( $p=0,171$ ).

Foi calculada a percentagem das zonas de falha dos palitos de dentina-resina (Fig. 18). Nos GA e GC a maior percentagem de falhas foi adesiva. Nos GB e GD a percentagem de falhas coesivas do tipo adesiva e no compósito foi semelhante.



**Figura 14** – Gráfico representativo da percentagem (%) das zonas de falha de cada grupo estudado.

## 5. Discussão

Para avaliar a *performance* de um sistema adesivo é importante estudar o seu comportamento mecânico, ou seja, calcular as tensões de resistência adesiva responsáveis por garantir a qualidade e integridade da interface adesiva que une o substrato dentinário à restauração (Van Meerbeek *et al.*, 2010). Neste trabalho foi executado o ensaio de resistência adesiva à microtração ( $\mu$ TBS) descrito na literatura como um ensaio mais preciso, apesar de mais sensível. Foi desenvolvido em 1994 por Sano. Utiliza uma secção quadrada com áreas de adesão reduzida ( $\leq 1\text{mm}^2$ ) (Sano *et al.*, 1994, Pashley *et al.*, 1999, Scherret *et al.*, 2009, Van Meerbeek *et al.*, 2010).

É de salientar que este método de avaliação implica uma preparação cuidadosa e demorada dos espécimes (Pashley *et al.*, 1999). Não é possível prever a magnitude das forças, às quais as amostras são submetidas previamente à realização do ensaio de resistência adesiva à microtração, sendo este um fator que pode influenciar os resultados obtidos (Van Meerbeek *et al.*, 2011, Chen *et al.*, 2015). Todas as fraturas prévias aos testes de microtração que ocorreram neste estudo não foram quantificadas sendo, no entanto, o seu número semelhante para os 4 grupos em estudo.

Apesar do comportamento dos materiais *in vitro* não ser comparável às condições clínicas, torna-se essencial reproduzir *in vitro* condições de execução que se assemelhem à realidade clínica (Sano *et al.*, 1994). Desta forma, é importante a simulação de pressão pulpar positiva com recurso a um dispositivo concebido para o efeito (Sauro *et al.*, 2007). Na literatura está descrito o valor de pressão pulpar, preconizado entre 15 a 200 cm H<sub>2</sub>O (Ciucchi *et al.*, 1995; Grégoire *et al.*, 2003; Chersoni *et al.*, 2004; Cadenaro *et al.*, 2005; Rosales-leal *et al.*, 2007; Rodrigues *et al.*, 2015). Para o presente estudo laboratorial foi utilizado o valor de 77cm H<sub>2</sub>O calculado através de medições diretas *in vivo* (Brown & Yankowitz 1964).

O efeito da pressão pulpar simulada neste estudo *in vitro* pode ser discutível tendo em conta que foram utilizados apenas molares hígidos. Clinicamente, os procedimentos adesivos são realizados em dentes que não se encontram íntegros, a uma superfície dentinária com características morfológicas diferentes e, portanto, com uma permeabilidade à superfície da dentina diferente daquela que se esperaria em dentes hígidos (Pashley *et al.*, 1991). Ainda na clínica poderíamos ter condições diferentes das que foram simuladas neste trabalho, nomeadamente o uso de anestésico local com vasoconstritor para efetuar procedimentos restauradores. Contudo, vários autores

mostram que o efeito do vasoconstritor na pressão pulpar é irrelevante, por ser um efeito de curta duração e transitório sendo que durante o procedimento adesivo o valor de pressão pulpar já está normalizado (Beveridge & Brown, 1965, Simard-Savoie *et al.*, 1979, Simard-Savoie *et al.*, 1990).

Para além do referido e com o objetivo de recriar as condições *in vivo*, neste estudo foi simulada uma *smear layer* com recurso a lixas de carbetto de silício com granulometria de 320 (Oliveira *et al.*, 2003).

Na literatura está descrito que 20MPa é um valor médio razoável para se conseguir obter restaurações adesivas de sucesso (Asmussen & Munksgaard, 1985, Burrow *et al.*, 1994). Neste estudo os valores médios de resistência adesiva em todos os grupos estudados foram bastante superiores. O GD obteve um valor médio cinco vezes superior.

As características morfológicas observadas na interface adesiva tiveram influência nos valores de resistência adesiva assim como verificado em outros estudos que cumpriram a mesma metodologia (Ramos, 2016, Rodrigues, 2016).

Para o grupo sem tratamento da superfície de dentina (GA), quando observadas as microfotografias em MEV, verifica-se que tanto a camada híbrida como os prolongamentos de resina são reduzidos, sendo estes curtos e sem prolongamentos de resina acessórios. Para além disso é possível identificar falhas no compósito. Estas imagens correspondem ao valor médio de microtração mais baixo neste estudo. Ainda assim, muito mais elevado que outros estudos que seguiram a mesma metodologia (Ramos 2016, Rodrigues 2016, Abreu 2017).

O GC é o grupo com menos prolongamentos de resina, com mais porosidades, falhas adjacentes à camada híbrida e com uma camada híbrida mais irregular. Relativamente ao GB, o valor médio de resistência adesiva obtido foi superior ao do GA e GC, no entanto sem diferenças estatísticas ( $p=0,063$ ). Nas imagens de MEV é possível observar uma camada híbrida mais espessa comparativamente ao GA e GC. Verificam-se também prolongamentos de resina mais longos e em maior número, para além da *smear layer* incluída na interface adesiva. Quanto ao GD, foi o grupo que apresentou o valor médio de resistência adesiva significativamente mais elevado que os restantes ( $p<0,05$ ). Nas microfotografias em MEV deste grupo são visíveis mais prolongamentos de resina dentro dos túbulos dentinários, e alguns prolongamentos acessórios. Além disso apresenta uma camada híbrida espessa e íntegra parecida com a do GC.

Deste modo, a primeira hipótese nula é rejeitada, uma vez que protocolo de tratamento da dentina antes da aplicação do sistema adesivo no modo SE com pressão pulpar têm influência nos valores de resistência adesiva obtidos.

Além do mencionado, no GA foi aplicada a mesma metodologia (mesmo ensaio de resistência adesiva, mesmo adesivo e modo de aplicação) porém o valor médio de resistência adesiva foi cerca de 10 vezes, superior quando comparado com o estudo de Ramos em 2016 (Ramos, 2016). Para além das limitações e da sensibilidade do teste de ensaio de resistência utilizado, este resultado obtido pode dever-se a erros do operador. Apesar disso, o operador foi o mesmo para todos os grupos, o que torna a comparação de resultados possível dentro do respetivo estudo. Como já referido anteriormente, a introdução de viés neste tipo de estudo é possível. A aplicação do adesivo seguida da primeira camada de resina composta é, provavelmente, um dos passos mais críticos deste estudo laboratorial. O operador deve manusear de forma cuidadosa a aplicação da primeira camada de resina composta, caso contrário durante a aplicação da resina pode ocorrer o arrastamento da camada de adesivo, levando posteriormente a valores de resistência adesiva menores daqueles que seriam expetáveis.

Chasqueira em 2017 (Chasqueira, 2017) obteve resultados mais próximos aos obtidos nesse estudo, porém o teste utilizado para avaliar as forças de resistência adesiva foi diferente (*shear*). Está descrito na literatura que este tipo de teste por ser um macroteste, usa uma área de superfície maior o que leva a valores de resistência inferiores (Scherrer *et al.*, 2010). Quando usado um microteste (microtração) conseguem-se valores quase duas vezes superiores quando comparado com um macroteste (Shcerrer *et al.*, 2010). Deste modo, seria expetável que, se no estudo de Chasqueira 2017 se tivesse utilizado um microteste, os valores podiam ser os mesmos que foram obtidos no neste estudo.

No estudo de Ramos 2016, o mesmo sistema adesivo universal no modo SE com pressão pulpar obteve valores de resistência adesiva muito baixos, na ordem dos 4-5 MPa (Ramos, 2016). Está descrito que a resistência coesiva da *smear layer* à dentina é cerca de 5MPa (Pashley, 1992). Portanto assumiu-se que quando é usado um adesivo universal segundo esta estratégia não é possível ultrapassar a *smear layer* carregada de água. Contudo neste estudo não se verificou este pressuposto. Obtiveram-se valores de resistência adesiva na ordem dos 50MPa. Outros estudos com metodologia idêntica (sem condições de pressão pulpar positiva) sobre o desempenho mecânico do Scotchbond Universal, têm mostrado valores de resistência adesiva semelhantes aos obtidos neste

estudo no GA (Muñoz *et al.*, 2013, Chen *et al.*, 2015, Zhang Z *et al.*, 2016). O Scotchbond Universal apesar de ser classificado como um SE ultra-suave (pH=2,7) promovendo uma desmineralização mais superficial de poucos nanômetros, apresenta a vantagem de possuir a molécula 10-MDP na sua constituição (Van Meerbeek *et al.*, 2010; Sezinando, 2014). Com isto têm grande potencial de ligação química ao  $\text{Ca}^{2+}$  do substrato formando *nanolayers*. Estas *nanolayers* são responsáveis por garantir uma maior estabilidade da interface adesiva, devido à sua baixa dissolução (Van Meerbeek *et al.*, 2003, Van Landuyt *et al.*, 2007).

Também por apresentar HEMA, um monómero hidrofílico de baixo peso molecular, de baixa viscosidade, o que potencia a impregnação numa *smear layer* carregada de água (Nakabayashi & Takarada 1992, Burrow *et al.*, 1999). Porém é instável em solução aquosa devido às poucas ligações cruzadas que estabelece. (Paul *et al.*, 1999). Com isto torna-se importante a remoção de água residual da dentina através, por exemplo de uma secagem adequada. As instruções dadas pelo fabricante quanto à secagem parecem ser insuficientes (jato de ar suave durante 5 s), visto que um tempo prolongado de evaporação do solvente pode beneficiar a polimerização do adesivo (Luque-Martinez *et al.*, 2014). Por outro lado, o fabricante aconselha aplicação do adesivo ativamente sobre o substrato dentinário durante 20 s, e sabe-se que aplicação dinâmica do adesivo durante pelo menos 15 s melhora os valores de resistência adesiva. Além disso, aplicação ativa do adesivo permite maior penetração dos monómeros acídicos na dentina, bem como uma maior evaporação do solvente (Perdigão & Loguercio, 2014, Muñoz *et al.*, 2014).

A composição de um sistema adesivo e o seu protocolo de aplicação são dois aspetos importantes a ter em conta para o sucesso clínico de uma restauração em resina composta: por influenciar a quantidade de resina fluída que é impregnada quer em espessura e comprimento, e também afetar a evaporação de água remanescente (Hashimoto *et al.*, 2004). Deste modo no GC acreditava-se que por tratamento da dentina com acetona seria possível aumentar os valores de resistência adesiva através da remoção da água em excesso, que se encontra presa ao nível as *smear layer* e em maior quantidade do que tradicionalmente se encontra num estudo *in-vitro* uma vez que estamos a utilizar pressão pulpar positiva. O valor médio de resistência adesiva para este grupo foi maior que no GA, no entanto sem diferença estatística significativa.

Acredita-se que a aplicação prévia de acetona, sendo um agente orgânico volátil (temperatura de ebulição 56,58°C), permite uma melhor evaporação da água residual (Tay *et al.*, 1998). Os resultados obtidos para este grupo podem dever-se ao protocolo aplicado.

A Aplicação de acetona durante 20s pode ter sido insuficiente para a evaporação da água proveniente da pressão pulpar.

No GB, foram aplicadas 3 camadas de adesivo. A aplicação de camadas extra de adesivo melhora o desempenho de um sistema adesivo universal aplicada no modo SE. Há maior impregnação de monómeros acídicos, logo maior potencial de desmineralização mesmo na presença de pressão pulpar (Hashimoto *et al.*, 2004, Ito *et al.*, 2005, Pushpa & Suresh, 2010). Além disso, a aplicação de várias camadas de adesivo leva a formação de uma camada híbrida mais espessa quando comparado com os grupos GA e GC em que foi aplicado só uma camada.

Acredita-se que a inibição da polimerização por contacto com oxigénio atmosférico também se apresenta mais limitada devido a proteção da primeira camada por parte das suprajacentes polimerizadas (Pashley *et al.*, 2002, Ito *et al.*, 2005). Ainda a secagem do adesivo durante 20s entre aplicação das diferentes camadas aumentou a eliminação do solvente residual, o que permitiu a criação de uma interface mais uniforme e estável (Elkassas *et al.*, 2009, Ito *et al.*, 2005). Tudo o mencionado poderá explicar o aumento dos valores de resistência adesiva neste grupo.

Assim como já referido na literatura, verifica-se também neste estudo, que é mais relevante a integridade da camada híbrida verificada pela ausência de falhas ou porosidades com uma completa impregnação do substrato juntamente com a formação de prolongamentos laterais de resina, do que unicamente a quantidade e extensão dos prolongamentos (Van Landuyt *et al.*, 2007).

Ao tratar a dentina com EDTA estamos a aplicar um ácido que possui um efeito quelante, liga-se ao  $Ca^{2+}$  disponível na *smear layer*, desta forma desbridando os canalículos dentinários obstruídos (Farina *et al.*, 2011, Martini *et al.*, 2017). Sem esta barreira natural, os monómeros acídicos do sistema adesivo conseguem penetrar mais facilmente num substrato mais limpo, criando um padrão de desmineralização mais retentivo (Martini *et al.*, 2017). Também atua por dissolução seletiva da hidroxiapatite, e como não a remove totalmente da superfície, contrariamente ao que acontece quando aplicado ácido fosfórico entre 30-40%, quando aplicado EDTA a matriz de colagénio não fica totalmente exposta (Farina *et al.*, 2011, Singh *et al.*, 2015, Martini *et al.*, 2017). Permanece com alguns cristais de hidroxiapatite e provavelmente mais resistente à degradação ao longo do tempo (Martini *et al.*, 2017).

Por outro lado, está descrito que aplicação de EDTA inibe das metaloproteínases, pelo que seria interessante estudar o comportamento mecânico, bem como a degradação



da interface adesiva e nanoinfiltração após envelhecimento das espécies (Singh *et al.*, 2015, Martini *et al.*, 2017).

A literatura atual é inconsistente quanto aos estudos que avaliam o efeito do tratamento da dentina com EDTA na performance de um adesivo universal no modo SE, nos estudos de Singh *et al.*, em 2015 e Martini *et al.*, em 2017 (sem condições de pressão pulpar) conseguiram valores de resistência adesiva superiores quando aplicaram EDTA previamente à adesão (Singh *et al.*, 2015, Martini *et al.*, 2017).

Quanto ao tipo de falhas de união observadas após o ensaio de resistência adesiva, foi registado maior número de falhas do tipo adesiva para o GA e GC. Contudo no GB e GD, a quantidade de falhas adesiva foi aproximadamente igual à quantidade de falhas coesivas de compósito. Estes dois últimos grupos foram os grupos que apresentaram uma interface adesiva mais íntegra e com mais prolongamentos de resina nos túbulos dentinários, para além de serem respetivamente os grupos com maiores valores médio de resistência adesiva. Portanto, seria espetável que o valor médio de resistência adesiva obtido para estes dois grupos fosse ainda maior do que o valor obtido neste estudo, caso 36% das amostras (GB) e 39% das amostras (GD) não tivessem falhado prematuramente devido a fraca união coesiva da resina composta. Com isto, percebe-se que o tipo de falha de união é influenciado pelo protocolo de tratamento da dentina antes da aplicação do sistema adesivo no modo SE com pressão pulpar.

Este estudo avaliou a resistência adesiva às 24h, pelo que no futuro são necessários outros ensaios após envelhecimento para perceber o comportamento hidrolítico da interface adesiva e a sua influência nos valores de resistência adesiva. Tendo em conta que se trata de um sistema adesivo universal aplicado no modo SE, espera-se que se comporte como uma membrana semipermeável, permitindo a infiltração a longo prazo assim como acontece com os adesivos simplificados (Tay *et al.*, 2003, Van Landuyt *et al.*, 2005).

Apesar do mencionado, será interessante perceber se o tratamento da dentina com EDTA permite manter os valores de resistência adesiva. Apesar de ser um passo extra, se se demonstrar a longo prazo bons valores de resistência adesiva assim como uma interface adesiva igualmente íntegra, poderá ser uma estratégia adesiva promissora no que diz respeito ao aumento de retenção e durabilidade das restaurações adesivas.

## 6. Conclusão

Tendo em conta as limitações de um estudo *in vitro* é possível concluir que:

1. A morfologia da interface adesiva entre a dentina e a resina composta foi influenciada pelo protocolo de tratamento da dentina antes da aplicação do sistema adesivo no modo SE com pressão pulpar. O grupo sem tratamento da dentina, assim como o grupo do tratamento da dentina com acetona apresentaram maior quantidade de defeitos na interface adesiva.

2. A resistência adesiva da dentina à resina composta foi influenciada pelo protocolo de tratamento de dentina antes da aplicação do sistema adesivo universal no modo SE com pressão pulpar. O tratamento da dentina com uma solução aquosa a 17% de EDTA mostrou um valor médio de resistência adesiva significativamente superior aos restantes grupos estudados ( $p<0,05$ ).

3. Foi possível estabelecer uma correlação positiva entre os valores médios de resistência adesiva obtidos após as 24h e as diferenças morfológicas observadas na interface adesiva dos grupos estudados.

4. O modo de falha de união da dentina à resina composta foi influenciado pelo protocolo de tratamento de dentina antes da aplicação do sistema adesivo universal no modo SE com pressão pulpar. As diferenças foram encontradas entre os resultados do GA e GC comparativamente ao GB e GD. Estes últimos apresentaram maior percentagem de falhas do tipo coesivo de resina composta, enquanto que os primeiros apresentaram maior percentagem de falhas do tipo adesivo.

5. Futuramente será importante a realização de outros ensaios laboratoriais que avaliem o efeito do tratamento da dentina com EDTA no desempenho do adesivo Scotchbond Universal quando aplicado com pressão pulpar no modo SE quer a nível dos valores médios de resistência adesiva quer na integridade da interface adesiva após envelhecimento.

## 7. Bibliografia

Abreu D. Estudo in vitro da adesão à dentina promovida por um sistema universal – All-Bond Universal – com e sem pressão pulpar. Universidade de Lisboa. 2017.

Asmussen E, Munksgaard EC. Adhesion of restorative resins to dentinal tissues. In: Posterior composite resin dental restorative materials. van Herle G, Smith DC, editors. 1985; St. Paul, MN: 3M Co, pp. 217-229.

Belli R, Sartori N, Peruchi LD, Guimarães JC, Veira LC, Baratieri LN, et al. Effect of multiple coats of ultra-mild All-in- One adhesives on bond strength to dentin covered with two different smear layer. J Adhes Dent. 2011;13:507–16.

Besinis A, Noort R Van, Martin N. The use of acetone to enhance the infiltration of HA nanoparticles into a demineralized dentin collagen matrix. Dent Mater. 2015;32(3):385–93.

Beveridge EE, Brown AC. The measurement of human dental intrapulpal pressure and its response to clinical variables. Oral Surgery, Oral Med Oral Pathol. 1965;19:655–68

Brown a. C, Yankowitz D. Tooth Pulp Tissue Pressure and Hydraulic Permeability. Circ Res. 1964; 15(1):42–50.

Buonocore MG. A Simple Method of Increasing the Adhesion of Acrylic Filling Materials to Enamel Surfaces. J Dent Res. 1955;34(6):849–53.

Burrow MF, Tagami J, Negishi T, Nikaido T, Hosoda H. Early tensile bond strengths of several enamel and dentin bonding systems. J Dent Res. 1994;73:522–8.

Burrow MF, Inokoshi S, Tagami J. Water sorption of several bonding resins. Am J Dent; 1999;12(6): 295-298.

Cadenaro M, Antonioli F, Sauro S, Tay FR, Di Lenarda R, Prati C, et al. Degree of conversion and permeability of dental adhesives Degree of conversion and permeability of dental adhesives. Eur Journa Oral Sci. 2005;115:525–30

Cardoso M V, de Almeida Neves a, Mine a, Coutinho E, Van Landuyt K, De Munck J, et al. Current aspects on bonding effectiveness and stability in adhesive dentistry. Aust Dent J. 2011;56 (1):31–44.

Ciucchi B, Bouillaguet S, Holz J, Pashley D. Dentinal fluid dynamics in human teeth, in vivo. J Endod. 1995; 21(4):191–4.

Chasqueira A. Influência do tipo de Sistema adesivo, protocolo de aplicação e envelhecimento de sistemas adesivos simplificados na adesão à dentina. Dissertação de candidatura ao grau de Doutor Universidade de Lisboa. 2017

Chen C, Niu L, Xie H, Zhang Z, Zhou L, Jiao K, et al. Bonding of universal adhesives to dentin—old wine in new bottles? J Dent. 2015;43(5):525–36.

Chersoni S, Suppa P, Grandini S, Goracci C, Monticelli F, Yiu C, et al. In vivo and in vitro permeability of one-step self-etch adhesives. J Dent Res. 2004;83(6):459–64.

Clark V. Sample size determination. Plast Reconstructive Surg. 1991;87(3):569–73.

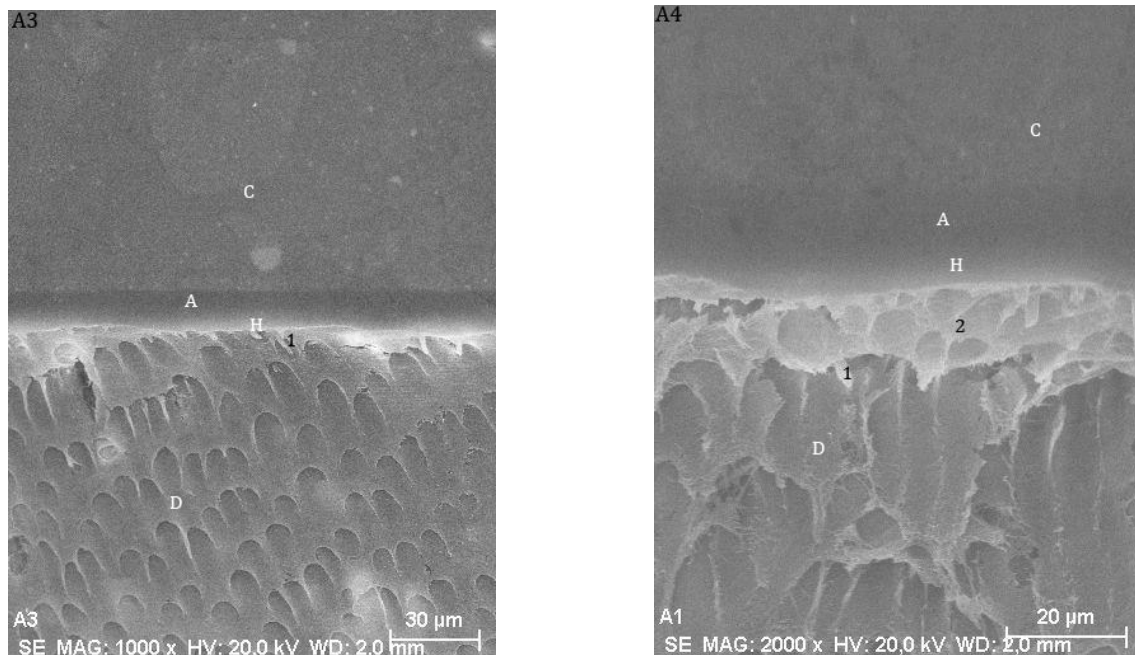
- Cui F, Liu X, Ma L, Chiba A, Li B, Zhou J, Tan J. Application of ethanol improves the resin-dentin bond strength of a two-bottle, self-etching primer-adhesive. *Am J Dent*. 2015;28(4).
- Elkassas D, Taher HA, Elsahn N, Hafez R, El-Badrawy W. Effect of the number of applications of acetone-based adhesives on microtensile bond strength and the hybrid layer. *Oper Dent*. 2009;34(6): 688-696.
- Farina AP, Cecchin D. Influence of endodontic irrigants on bond strength of a self-etching adhesive. *Aust Endo J*. 2011;26–30.
- Garberoglio R, Brannstrom M. Scanning electron of human microscopic investigation. *Arch Oral Biol*. 1976;21:355–62.
- Grégoire G, Joniot S, Guignes P, Millas A. Dentin permeability: Self-etching and one-bottle dentin bonding systems. *J Prosthet Dent*. 2003;90(1):42–9.
- Hanabusa M, Mine A, Kuboki T, Momoi Y, Van Ende A, Van Meerbeek B, De Munck J. Bonding effectiveness of a new “multi-mode” adhesive to enamel and dentin. *J Dent*; 2012 40(6): 475-484.
- Hashimoto M, Ohno H, Sano H, Kaga M. In vitro degradation of resin – dentin bonds analyzed by microtensile bond test, scanning and transmission electron microscopy. *Biomaterials*; 2003;24:3795–803.
- Hashimoto M, Sano H, Yoshida E, Hori M, Kaga M, Oguchi H, Pashley DH (2004). Effects of multiple adhesive coatings on dentin bonding. *Oper Dent*; 2004; 29(4): 416-423.
- Hashimoto M, Whitesides GM. Flowing lattices of bubbles as tunable, self-assembled diffraction gratings. *Small*. 2006;2(11):1292-8.
- Hashimoto M, Fujita S, Endo K, Ohno H. Effect of dentinal water on bonding of self-etching adhesives. *Dent Mater J*. 2009;28(5):634–41.
- Hashimoto M., Fujita S., Endo K. Bonding of self-etching adhesives on dehydrated dentin. *J. Adhes. Dent*. 2011;13:49–54.
- Hosaka K, Nakajima M, Yamauti M, Aksornmuang J, Ikeda M, Foxton RM, et al. Effect of simulated pulpal pressure on all-in-one adhesive bond strengths to dentine. *J Dent*. 2007; 35(3):207–13.
- Imbery TA, Kennedy M, Janus C, Moon PC. Evaluating EDTA as a substitute for phosphoric acid-etching of enamel and dentin. *General Dentistry*. 2012;60:e55–61.
- Ito S, Tay FR, Hashimoto M, Yoshiyama M, Saito T, Brackett WW, et al. Effects of multiple coatings of two all-in-one adhesives on dentin bonding. *J Adhes Dent*. 2005;7(2):133–41.
- Luque-martinez I V, Perdigão J, Mu MA, Sezinando A, Reis A, Loguercio AD. Effects of solvent evaporation time on immediate adhesive properties of universal adhesives to dentin. *Dent Mater*. 2014;30:1126–35.
- Martini EC, Parreiras SO, Gutierrez MF, Loguercio AD. Effect of Different Protocols in Preconditioning With EDTA in Sclerotic Dentin and Enamel Before Universal Adhesives Applied in Self-etch Mode. *Operative Dentistry*. 2017;284–96.

- Muñoz MA, Loguercio AD, Reis A, Luque I, Hass V, Bombarda N. Immediate bonding properties of universal adhesives to dentine. *J Dent*. 2013;41:404–11.
- Muñoz MA, Sezinando A, Luque-Martinez I, Szesz AL, Reis A, Loguercio AD, et al. Influence of a hydrophobic resin coating on the bonding efficacy of three universal adhesives. *J Dent*. 2014;42(5):595–602.
- Nakabayashi N, Takarada K. Effect of HEMA on bonding to dentin. *Dent Mater*. 1992; 8(2):125-130.
- Oliveira SMSA. Mecanismos de adesão: análise de Self-Etching Materials. Dissertação de candidatura ao grau de Doutor. Universidade do Porto. 2004.
- Oliveira SSA, Pugach MK, Hilton JF, Watanabe LG, Marshall SJ, Marshall GW. The influence of the dentin smear layer on adhesion: a self-etching primer vs . a total-etch system. *Dent Mater*. 2003;19(8):758–67.
- Park S, Wang D, Zhang D, Romberg E, Arola D. Mechanical properties of human enamel as a function of age and location in the tooth. *J Mater Sci Mater Med*. 2008; 19:2317–24.
- Pashley DH. Smear Layer: physiological considerations. *Oper Dent*. 1984; Supplment:13–29.
- Pashley DH. Dentin: a dynamic substrate-a review. *Scan Microsc*. 1989; 3: 161-172.
- Pashley DH. Smear layer: overview of structure and function. *Proc teh Finnish Dent Soc*. 1992;88(1):215–24.
- Pashley DH, Sanos H, Ciucchi B, Yoshiyama M, Carvalhos RM. Adhesion testing of dentin bonding agents: A review. *Dent Mater*. 1995;(March):117–25.
- Pashley DH. Dynamics of the pulpo-dentin complex. *Crit Rev Oral Biol Med*. 1996;7(2): 104-133. 2.
- Pashley DH, Carvalho RM. Dentine permeability and dentine adhesion. *J Dent*. 1997;25(5): 355–72.
- Pashley DH, Carvalho RM, Sano H, Nakajima M, Yoshiyama M, Shono Y, Fernandes CA, Tay F. The microtensile bond test: a review. *J Adhes Dent*. 1999;1(4): 299-309.
- Pashley DH, Tay FR, Breschi L, Tjaderhane L, Carvalho RM, Carrilho M, Tezvergil-Mutluay A. State of the art etch-and-rinse adhesives. *Dent Mater*. 2011; 27(1): 1-16.
- Pashley EL, Talman R, Horner JA, Pashley DH. Permeability of the normal versus carious dentine. *Endod Dental Traumatol*. 1991;7(5):207-11.
- Pashley EL, Zang Y, Lokwood PE, Rueggeberg FA, Pashley DH. Effects of HEMA on water evaporation from water-HEMA mixtures. *Dent Mater*. 1998;14(1): 6-10.
- Pashley EL, Agee KA, Pashley DH, Tay FR. Effects of one versus two applications of an unfilled, all-in-one adhesive on dentin bonding. *J Dent*. 2002;30(2-3): 83-90.
- Paul SJ, Leach M, Rueggeberg FA, Pashley DH. Effect of water content on the physical properties of model dentine primer and bonding resins. *J Dent*. 1999;27(3): 209-214.

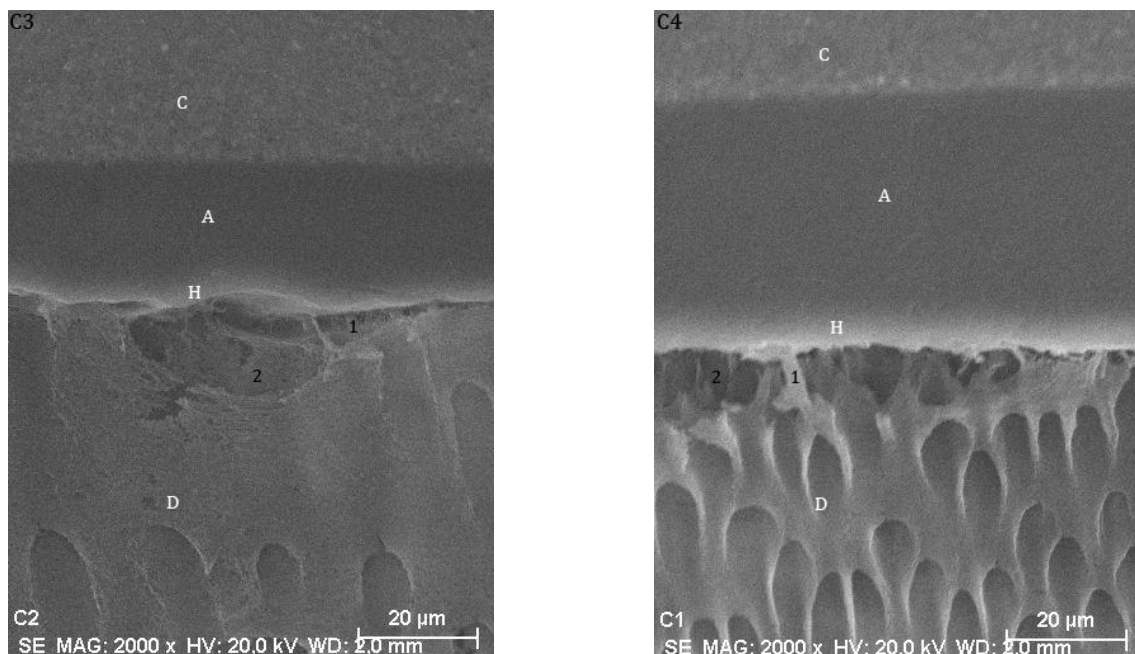
- Perdigão J, Lambrechts P, van Meerbeek B, Tome AR, Vanherle G, Lopes AB (1996). Morphological field emission-SEM study of the effects of six phosphoric acid etching agents on human dentin. *Dent Mat.* 1996;12(4): 262-271.
- Perdigão J. Dentin bonding as a function of dentin structure. *Dent Clin North Am.* 2002;46(2):277–301.
- Perdigão J. New Developments in Dental Adhesion New Developments in Dental Adhesion. *Dent Clin North Am.* 2007;51(2):333-57.
- Perdigão J. Dentin bonding-variables related to the clinical situation and the substrate treatment. *Dent Mater.* 2010; 26(2): e24–37.
- Perdigão J, Reis A, Loguercio AD. Dentin adhesion and MMPs: A comprehensive review. *J Esthet Restor Dent.* 2013;25(4):219–41.
- Perdigão J, Loguercio D. Universal or Multi-mode Adhesives : Why and How ? *J Adhes Dent.* 2014;16(2):193–4.
- Pushpa R, Suresh BS. Marginal permeability of one step self-etch adhesives: Effects of double application or the application of hydrophobic layer. *J Conserv Dent.* 2010;13(3): 141-144.
- Ramos M. Estudo in vitro da adesão à dentina promovida por um sistema universal-Scotchbond universal- com e sem pressão pulpar. Universidade de Lisboa. 2016.
- Rodrigues F. In vitro study of the adhesion to dentin promoted by an universal adhesive – Futurabond M+ - with and without pulpal pressure. Universidade de Lisboa. 2016
- Rodrigues S, Oliveira N, Chasqueira F, Portugal J, Oliveira SSA. Permeabilidade dentinária e morfologia da interface adesiva de diferentes sistemas adesivos. *Rev Port Estomatol Med Dent Cir Maxilofac.* 2015;56(1):42–50.
- Rosales-Leal JJ, de la Torre-Moreno FJ, Bravo M. Effect of pulp pressure on the micropermeability and sealing ability of etch & rinse and self-etching adhesives. *Oper Dent.* 2007;32(3):242–50.
- Sano H, Shono T, Sonoda H, Takatsu T, Ciucchi B, Carvalho R, et al. Relationship between surface area for adhesion and tensile bond strength – evaluation of a micro-tensile bond test. *Dent Mater.* 1994;10:236–40
- Sauro S, Pashley DH, Montanari M, Chersoni S, Carvalho RM, Toledano M, et al. Effect of simulated pulpal pressure on dentin permeability and adhesion of self-etch adhesives. *Dent Mater.* 2007; 23(6):705–13.
- Scherrer SS1, Cesar PF, Swain MV. Direct comparison of the bond strength results of the different test methods: a critical literature review. *Dent Mater.* 2010;26(2): 78-93.
- Seidberg BH & Schilder H. An evaluation of EDTA in endodontics. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1974; 37 (4) 609-20.
- Sezinando A. Looking for the ideal adhesive - A review. *Rev Port Estomatol Med Dent e Cir Maxilofac.* 2014;55(4):194–206.

- Simard-Savoie S, Lemay H, Taleb L. The effect of epinephrine on pulpal microcirculation. *J Dent Res.* 1979;58(11):2074–9.
- Simard-Savoie S, Perrault I, Perron MJ. Effects of articaine on intrapulpal, mandibular, and femoral pressures in dogs. *Anesth Prog.* 1990;37(1):16–9.
- Singh S, Nagpal R, Tyagi SP, Manuja N. Effect of EDTA Conditioning and Carbodiimide Pretreatment on the Bonding Performance of All-in-One Self-Etch Adhesives. *Int J Dent.* 2015;2015:141890.
- Taschner M, Nato F, Mazzoni A, Frankenberger R, Kramer N, Di Lenarda R, et al. Role of preliminary etching for one-step self-etch adhesives. *Eu J Oral Sci.* 2010;118(5):517–24.
- Tay FR, Gwinnett JA, Wei SH. Relation between water content in acetone/alcohol-based primer and interfacial ultrastructure. *Journal of Dentistry.* 1998;26:147–56.
- Tay FR, Pashley DH. Water treeing--a potential mechanism for degradation of dentin adhesives. *Am J Dent.* 2003;16(1):6-12.
- Tay FR, Pashley DH, Suh B, Carvalho RM, Miller M. Single step, self-etch adhesives behave as permeable membranes after polymerization - Part I – Bond strength and morphologic evidence. *Am J Dent.* 2004a;17(4): 271-278.
- Tay FR, Pashley DH, Garcia-Godoy F, Yiu CK. Single step, self-etch adhesives behave as permeable membranes after polymerization - Part II – Silver tracer penetration evidence. *Am J Dent.* 2004b;17(5): 315-322.
- Van Landuyt K, De Munck J, Snauwaert J, Coutinho E, Poitevin A, Yoshida Y, Inoue S, Peumans M, Suzuki K, Lambrechts P, Van Meerbeek. Monomer-solvent phase separation in one step self-etch adhesives. *JDR.* 2005; 84(2): 183-188.
- Van Landuyt KL, Snauwaert J, De Munck J, Peumans M, Yoshida Y, Poitevin A, et al. Systematic review of the chemical composition of contemporary dental adhesives. *Biomaterials.* 2007;28(26):3757–85.
- Van Meerbeek B, Vanherle G. Morphological characterization of the interface between resin and sclerotic dentine. *J Dent.* 1994;141–6.
- Van Meerbeek B, De Munck J, Yoshida Y, Inoue S, Vargas M, Vijay P, et al. Buonocore memorial lecture. Adhesion to enamel and dentin: current status and future challenges. *Oper Dent.* 2003;28(3):215–35.
- Van Meerbeek B, Peumans M, Poitevin A, Mine A, Van Ende A, Neves A et al.. Relationship between bond-strength tests and clinical outcomes. *Dent Mater.* 2010;26(2):e100-121.
- Van Meerbeek B, Yoshihara K, Yoshida Y, Mine A, De Munck J, Van Landuyt KL. State of the art of self-etch adhesives. *Dental Materials.* 2011;27(1):17–28.
- Zhang Z, Tian F, Niu L, Ochala K, Chen C, Fu B, Wang X, Pashley DH, Tay F. Defying ageing: an expectation for dentine bonding with universal adhesives. *J. Dent.* 2016; 45, 43–52

## Apêndice A – Microfotografias da Microscopia eletrônica de Varrimento (MEV)

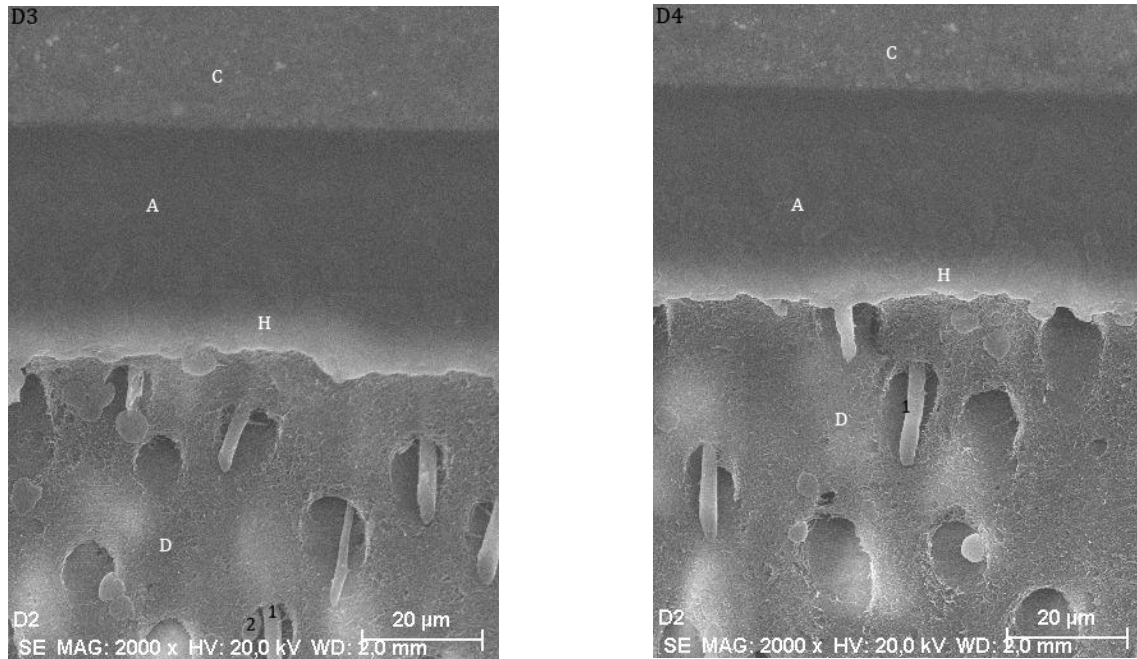


**Figura A. 1** – Microfotografias obtidas através de MEV da interface adesiva após aplicação do sistema adesivo no modo *SE* segundo o fabricante e com pressão pulpar – Grupo A. Imagem A3 – ampliação 1000x. Imagem A4 – ampliação 2000x. A – Camada de Adesivo; C - camada de compósito, D – dentina, H – camada Híbrida, 1 - prolongamentos de resina, 2 - *smear layer*.

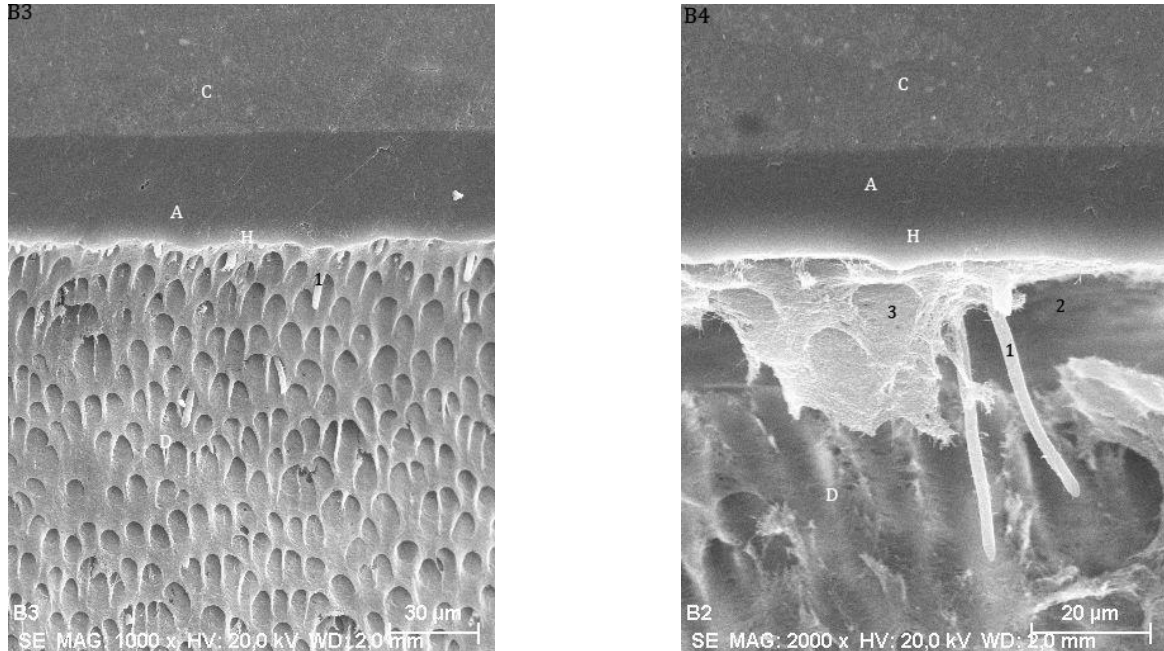


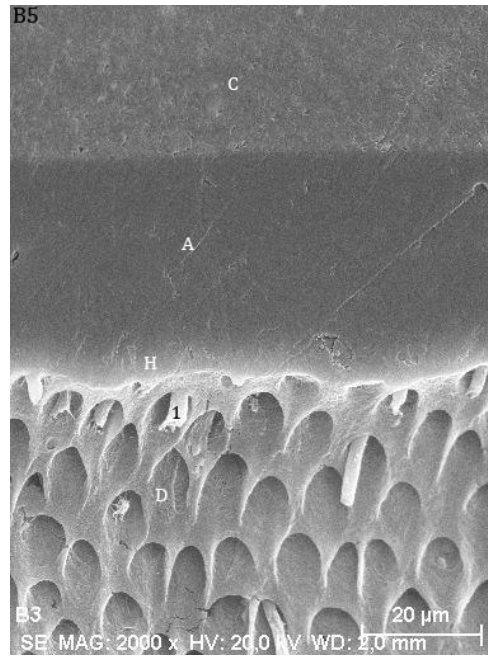
**Figura A. 2** – Microfotografias obtidas através de MEV da interface adesiva após aplicação de Acetona previamente ao sistema adesivo no modo *SE* segundo o fabricante e com pressão pulpar – Grupo C. Imagem C3 e C4 – ampliação 2000x. A – Camada de Adesivo; C - camada de compósito, D – dentina, H – camada Híbrida, 1 - prolongamentos de resina, 2 – falha por baixo da camada híbrida.





**Figura A. 3** – Microfotografias obtidas através de MEV da interface adesiva após aplicação de EDTA previamente ao sistema adesivo no modo *SE* e com pressão pulpar – Grupo D. Imagem D3 e D4 – ampliação 2000x. A – Camada de Adesivo; C- camada de compósito, D – dentina, H – camada Híbrida, 1 – prolongamento de resina, 2 – prolongamento acessório de resina.





**Figura A. 4** – Microfotografias obtidas através de MEV da interface adesiva após aplicação do sistema adesivo três vezes no modo SE e com pressão pulpar – Grupo B. Imagem B3 – ampliação 1000x. Imagem B4 e B5 – ampliação 2000x A – Camada de Adesivo; C- camada de compósito, D – dentina, H – camada Híbrida, 1 – prolongamento de resina, 2- falha por baixo da camada híbrida, 3- *smear layer*.

## Apêndice B – Tabelas

### Tests of Normality

	Grupo	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk	
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df
Microtração	Sistema Adesivo Fabricante	,206	10	,200 <sup>*</sup>	,888	10
	Sistema Adesivo 3 camadas	,217	10	,198	,890	10
	Acetona e Sistema Adesivo	,171	10	,200 <sup>*</sup>	,928	10
	EDTA e Sistema Adesivo	,181	10	,200 <sup>*</sup>	,925	10

### Tests of Normality

	Grupo	Shapiro-...
		Sig.
Microtração	Sistema Adesivo Fabricante	,160
	Sistema Adesivo 3 camadas	,171
	Acetona e Sistema Adesivo	,431
	EDTA e Sistema Adesivo	,402

\*. This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction

**Tabela B. 1** – Testes de Kolmogorov-Smirnov e Shapiro-Wilk para avaliação da normalidade da distribuição de valores.

### Test of Homogeneity of Variance

		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Microtração	Based on Mean	2,394	3	36	,084
	Based on Median	1,391	3	36	,261
	Based on Median and with adjusted df	1,391	3	17,864	,278
	Based on trimmed mean	2,075	3	36	,121

**Tabela B. 2** – Teste de Levene para avaliação da homogeneidade da variância.

## ANOVA

### Microtração

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	14348,661	3	4782,887	6,448	,001
Within Groups	26701,745	36	741,715		
Total	41050,406	39			

**Tabela B. 3** - Teste ANOVA de uma dimensão para análise dos valores de microtração entre os grupos experimentais.

## Post Hoc Tests

### Homogeneous Subsets

#### Microtração

##### Student-Newman-Keuls<sup>a</sup>

Grupo	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
Sistema Adesivo Fabricante	10	54,5846	
Acetona e Sistema Adesivo	10	56,7468	
Sistema Adesivo 3 camadas	10	83,0359	83,0359
EDTA e Sistema Adesivo	10		100,0616
Sig.		,063	,171

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 10,000.

**Tabela B. 4** - Teste Post-hoc Student Neuman Keuls para análise dos valores de microtração entre os grupos experimentais.